



**SKRIPSI – TK141581**

**PENGARUH KONSENTRASI CO<sub>2</sub>, NITROGEN DAN  
WAKTU INKUBASI TERHADAP PERTUMBUHAN DAN  
KADAR LIPID MIKROALGA *Botryococcus braunii*  
TERMUTASI UV-B DAN ALAMI**

**Oleh :  
Nadhif Achmad Faiz  
NRP. 02211440000059**

**Hana Nabila Salamah  
NRP. 02211440000142**

**Dosen Pembimbing  
Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M. Eng  
NIP. 1966 05 23 1991 02 1001**

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2018**



**FINAL PROJECT – TK141581**

**THE EFFECT CONCENTRATION OF CO<sub>2</sub>, NITROGEN  
AND INCUBATION TIME ON GROWTH AND LIPID  
PRODUCTIVITY OF MICROALGAE *Botryococcus braunii*  
UV-B RAYS MUTATED**

**By :  
Nadhif Achmad Faiz  
NRP. 02211440000059**

**Hana Nabila Salamah  
NRP. 02211440000142**

**Advisor  
Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M. Eng  
NIP. 1966 05 23 1991 02 1001**

**DEPARTMENT OF CHEMICAL ENGINEERING  
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY  
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY  
SURABAYA  
2018**

## LEMBAR PENGESAHAN

### **"Pengaruh Konsentrasi CO<sub>2</sub>, Nitrogen dan Waktu Inkubasi terhadap Pertumbuhan dan Kadar Lipid Mikroalga *Botryococcus braunii* Termutasi UV-B dan Alami"**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi S-1 Departemen Teknik Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh :

**Nadhif Achmad Faiz**  
**Hana Nabila Salamah**

**NRP. 02211440000059**  
**NRP. 02211440000142**

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng  
(Pembimbing)
2. Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng  
(Penguji I)
3. Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D  
(Penguji II)
4. Prof. Dr. Ir. Achmad Roesyadi, DEA  
(Penguji III)

*Aliya*

*K*

*Am*

*N*



**Surabaya,**  
**Juli 2018**

# **PENGARUH KONSENTRASI CO<sub>2</sub>, NITROGEN DAN WAKTU INKUBASI TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KADAR LIPID MIKROALGA *Botryococcus braunii* TERMUTASI UV-B DAN ALAMI**

**Nama / NRP :**

**1. Nadhif Achmad Faiz                      NRP. 02211440000059**

**2. Hana Nabila Salamah                      NRP. 02211440000142**

**Dosen Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng**

## **ABSTRAK**

Mikroalga *B.braunii* adalah bahan baku penghasil lipid yang cukup potensial. Mutasi dengan menggunakan sinar UV-B merupakan metode untuk meningkatkan produktivitas mikroalga. Pengurangan kadar nitrogen dalam nutrisi dan lama waktu kultur dilakukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap produktivitas lipid dan *lipid content* mikroalga *B.braunii*. Sedangkan penambahan CO<sub>2</sub> juga dilakukan untuk melihat pengaruh penambahan gas CO<sub>2</sub> murni pada kultur Mikroalga.

Variabel nitrogen dalam substrat dibuat dengan komposisi NaNO<sub>3</sub> 100 mg/L dan NaNO<sub>3</sub> 0,03 mg/L. Prekultur dilakukan selama 7 hari dengan pemberian nutrisi normal setiap 24 jam. Tahap selanjutnya adalah kultur mikroalga yang dilakukan selama 7 hari dan 20 hari dengan pemberian nutrisi sesuai variabel. Kondisi operasi meliputi penambahan aerasi sebanyak 2,5 L/menit. Untuk Penambahan CO<sub>2</sub> murni variabel yang digunakan sebanyak 50 mL/menit dan tanpa penambahan CO<sub>2</sub> murni. Pertumbuhan mikroalga dihitung dengan menggunakan metode *counting chamber* setiap 24 jam. Untuk mendapatkan lipid digunakan ekstraksi menggunakan n-heksan.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapatkan hasil bahwa kadar nitrogen dalam nutrisi berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kadar lipid mikroalga *B.braunii*. Mikroalga

*B.braunii* mutasi dengan nutrisi rendah memberikan pertumbuhan sel yang cukup pesat dibanding mikroalga *B.braunii* alami dan berhasil mencapai jumlah sel yang lebih banyak. Sedangkan untuk variabel tanpa penambahan CO<sub>2</sub> murni terlihat bahwa pertumbuhan tidak sebaik dibandingkan dengan penambahan CO<sub>2</sub> murni. Produktivitas biomassa dan lipid sangat ditentukan oleh pertumbuhan jumlah sel dan massa sel mikroalga *B.braunii*. Produktivitas biomassa tertinggi dihasilkan *B.braunii* mutasi dengan rendah nutrisi waktu kultur 7 hari yaitu sebesar 0,2644 (mg/mL)/ hari. Produktivitas lipid paling tinggi dihasilkan oleh *B.braunii* mutasi UV-B rendah nitrogen waktu kultur 7 hari yaitu sebesar 0,1697 (mg/mL)/ hari. *Lipid content* paling besar yaitu *B.braunii* mutasi UV-B rendah nitrogen waktu kultur 20 hari sebesar 66,4634%. *B.braunii* mutasi memberikan produktivitas biomassa tertinggi. Produktivitas lipid tertinggi dihasilkan oleh *B.braunii* mutasi UV-B, hal ini menunjukkan bahwa perlakuan mutasi UV-B mampu meningkatkan produktivitas lipid.

**Kata kunci :** Mikroalga, *Botryococcus braunii*, nitrogen, mutasi, UV-B

# **THE EFFECT CONCENTRATION OF CO<sub>2</sub>, NITROGEN AND INCUBATION TIME ON GROWTH AND LIPID PRODUCTIVITY OF MICROALGAE *Botryococcus braunii* UV-B RAYS MUTATED**

**Name / NRP :**  
**1. Nadhif Achmad Faiz NRP. 02211440000059**  
**2. Hana Nabila Salamah NRP. 02211440000142**  
**Advisor : Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng**

## **ABSTRACT**

*B.braunii* is a microalgae that currently being tested for it's ability because of high lipid content. UV-B radiation is a method to increase productivity of microalgae. Reduced levels of nitrogen in nutrients and duration of culture were conducted to determine the effect on lipid productivity and lipid content of *B. braunii*. CO<sub>2</sub> was used by plant as energy in the photosynthesis system.

The nitrogen variables in substrate were prepared with the composition of NaNO<sub>3</sub> 100 mg/L and NaNO<sub>3</sub> 0,03 mg/L. Pre-cultivation microalgae *B.braunii* in 7 days with normal nutrient every 24 hour. Cultivation time done in 7 days and 20 days with nitrogen in NaNO<sub>3</sub> varied, aeration addition 2,5 L/min, CO<sub>2</sub> addition 50 mL/min and without CO<sub>2</sub> addition. Microalgae growth is calculated with *counting chamber* every 24 hours. Extraction of lipid using n-hexane and n-hexane-metanol (2:1) to obtain the lipid in *B.braunii*.

It was found that the effect of nitrogen content in nutrients influenced the growth and lipid content of *B.braunii*. The mutation *B. braunii* with low nitrogen nutrients provides the most rapid cell growth compared to nautral microalgae. The productivity of biomass and lipids is determined by the growth of cells and the mass of cells *B.braunii*. The highest biomass

productivity was produced by mutation UV-B *B.braunii* with low nitrogen nutrient at 7 days cultivation time which 0,2644 (mg / mL) /day. The highest productivity of lipids produced by *B.braunii* UV-B mutation low nitrogen at 7 days cultivation which 0,1697 (mg / mL) /day. The largest lipid content was natural *B.braunii* and UV-B mutation with low nutrient at 20 days cultivation time were 66,4634%. Mutated UV-B *B.braunii* provide the highest biomass productivity and the highest lipid productivity was generated by *B.braunii* UV-B mutations too. Indicating of this result, UV-B mutation can increase the productivity of lipids.

**Keywords:** *Microalgae, Botryococcus braunii, nitrogen, mutation, UV-B*

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kami ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan anugerah-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan Skripsi berjudul **Pengaruh Konsentrasi CO<sub>2</sub>, Nitrogen dan Waktu Inkubasi terhadap Pertumbuhan dan Kadar Lipid Mikroalga *Botryococcus braunii* Termutasi UV-B dan Alami**. Dalam kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Juwari, S.T., M. Eng., Ph.D, selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTI-ITS.
2. Bapak Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D, selaku Sekretaris Departemen Teknik Kimia FTI-ITS.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M. Eng, selaku Kepala Laboratorium Teknologi Biokimia Departemen Teknik Kimia FTI ITS dan selaku dosen pembimbing.
4. Ibu Dr. Lailatul Qadariah, S.T., M.T. selaku Koordinator Program Studi S1 Departemen Teknik Kimia FTI-ITS.
5. Bapak Gunawan selaku Laboran Laboratorium Teknologi Biokimia.
6. Bapak dan Ibu Dosen Departemen Teknik Kimia FTI-ITS Surabaya yang telah memberikan ilmunya kepada penulis.
7. Orang tua, saudara-saudari kami, atas doa, bimbingan, perhatian, serta kasih sayang yang selalu tercurah selama ini.
8. Keluarga besar Laboratorium Teknologi Biokimia, atas semua dukungan, semangat, serta kerjasamanya.
9. Teman - teman K-54 Teknik Kimia ITS yang selalu memberikan ilmu serta pengetahuan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa selama penyusunan Skripsi ini masih banyak kekurangan yang perlu disempurnakan. Oleh karena itu, kritik dan saran tetap kami harapkan demi tercapainya kesempurnaan dalam penyusunan Laporan Skripsi ini.



Akhir kata, semoga Skripsi ini dapat bermanfaat dan menjadi berkat bagi semua pihak.

Surabaya, Juli 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

### HALAMAN JUDUL

### LEMBAR PENGESAHAN

ABSTRAK .....	i
ABSTRACT .....	iii
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xiii

### BAB I PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang.....	I-1
I.2 Rumusan Masalah .....	I-3
I.3 Tujuan Penelitian.....	I-3

### BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Potensi Mikroalga dan Bahan Baku Sebagai Biodiesel.....	II-1
II.2 Faktor-Faktor Pertumbuhan Mikroalga.....	II-3
II.3 <i>Botryococcus braunii</i> .....	II-5
II.4 Mutasi Genetika.....	II-8
II.5 Sinar Ultraviolet (UV) .....	II-8
II.6 Cara Mengukur Pertumbuhan Mikroalga.....	II-9
II.7 Ekstraksi Lipid.....	II-11
II.8 Lipid.....	II-12
II.9 <i>Thin Layer Chromatography</i> (TLC) .....	II-14
II.10 Analisa Gas <i>Chromatography</i> (GC) .....	II-15
II.11 Penelitian Sebelumnya.....	II-16
II.12 Penelitian Selanjutnya.....	II-23

### BAB III METODOLOGI PENELITIAN

III.1 Variabel Penelitian.....	III-1
III.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	III-2
III.3 Bahan dan Alat Penelitian.....	III-2
III.4 Kondisi Operasi Penelitian.....	III-4
III.5 Analisa Penelitian.....	III-5

III.6 Data yang Dihasilkan.....	III-5
III.7 Gambar Alat Kultur.....	III-6
III.8 Tahapan Metode Penelitian.....	III-7
III.9 Diagram Alir Penelitian.....	III-14
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
IV.1 Kultur Asal Budidaya.....	IV-1
IV.2 Pre-Kultur <i>B.braunii</i> Alami.....	IV-3
IV.3 Mutasi <i>B.braunii</i> Alami Menggunakan Lampu UV-B.....	IV-5
IV.4 Pre-Kultur <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B.....	IV-6
IV.5 Pengaruh Kadar Nitrogen dan Penambahan CO <sub>2</sub> .....	IV-8
IV.6 Pengaruh Kadar Nitrogen Rendah dan Waktu Kultur.....	IV-23
IV.7 Analisa pH.....	IV-25
IV.8 Analisa GC ( <i>Gas Chromatography</i> ) .....	IV-28
IV.9 Analisa <i>Thin Layer Chromatography</i> (TLC).....	IV-33
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
V.1 Kesimpulan.....	V-1
V.2 Saran.....	V-2
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	xv
<b>DAFTAR NOTASI</b> .....	xxi
<b>APPENDIKS</b> .....	A-1
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar II.1</b>	<i>Botryococcus braunii</i> .....	II-5
<b>Gambar II.2</b>	Struktur dari (a) Monogliserida (b) Digliserida (c) Trigliserida (d) FFA.....	II-6
<b>Gambar II.3</b>	Perhitungan Jumlah Sel dengan Hemasitometer .....	II-10
<b>Gambar II.4</b>	Reaksi Pembentukan TAG.....	II-12
<b>Gambar II.5</b>	Reaksi Pembentukan DAG dan MAG.....	II-13
<b>Gambar II.6</b>	Reaksi Pembentukan FFA.....	II-13
<b>Gambar II.7</b>	Elektroforesis Produk PCR dengan Gel Agarose 1% yang Telah Diwarnai <i>Red</i> <i>Safe</i> .(A) DNA <i>Marker</i> (B) DNA <i>B.braunii</i> Mutan HNO <sub>2</sub> (C) DNA <i>B.braunii</i> Mutan UV-B.....	II-20
<b>Gambar III.1</b>	Rangkaian Alat Kultur Mikroalga.....	III-6
<b>Gambar III.2</b>	Desain Alat Kultur Tampak Atas.....	III-6
<b>Gambar III.3</b>	Instalasi Alat Mutasi UV-B.....	III-8
<b>Gambar III.4</b>	Desain Alat untuk Penambahan CO <sub>2</sub> .....	III-9
<b>Gambar III.5</b>	Alat <i>Lux Meter</i> .....	III-10
<b>Gambar III.6</b>	<i>Hand Refractometer</i> .....	III-10
<b>Gambar III.7</b>	Penentuan Titik Hitung pada Hemasitometer.....	III-11
<b>Gambar III.8</b>	Rangkaian Alat Ekstraksi <i>Soxhlet</i> .....	III-12
<b>Gambar III.9</b>	Rangkaian Alat Distilasi.....	III-13
<b>Gambar IV.1</b>	Pertumbuhan sel <i>B.Braunii</i> dengan Asal Budidaya yang Berbeda Selama Kultur 7 Hari.....	IV-1
<b>Gambar IV.2</b>	Perbandingan Produktivitas Biomassa Dan Lipid Sel <i>B.braunii</i> Alami dengan Asal Budidaya yang Berbeda.....	IV-3
<b>Gambar IV.3</b>	Kurva Pertumbuhan <i>B.braunii</i> Pre-Kultur 7 Hari.....	IV-4

<b>Gambar IV.4</b>	Kurva Pertumbuhan <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B Selama 7 Hari.....	IV-7
<b>Gambar IV.5</b>	Pertumbuhan Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 Hari dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien Dan Penambahan CO <sub>2</sub> 50 mL/min.....	IV-10
<b>Gambar IV-6</b>	Pertumbuhan Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 Hari dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien tanpa Penambahan CO <sub>2</sub> Murni.....	IV-13
<b>Gambar IV.7</b>	Perbandingan Produktivitas Lipid pada Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV - B Variabel Waktu Kultur 7 dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien dengan Penambahan CO <sub>2</sub> 50 mL/min.....	IV-17
<b>Gambar IV.8</b>	Perbandingan Lipid Content pada Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien dengan Penambahan CO <sub>2</sub> 50 mL/min.....	IV-17
<b>Gambar IV.9</b>	Perbandingan Produktivitas Lipid pada Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien Tanpa Penambahan CO <sub>2</sub> murni.....	IV-21
<b>Gambar IV.10</b>	Perbandingan Lipid Content pada Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien tanpa Penambahan CO <sub>2</sub> murni.....	IV-22

<b>Gambar IV.11</b>	Perbandingan Lipid Content pada Variabel Waktu Kultur 7 dan 20 Hari Dengan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien dengan Penambahan CO <sub>2</sub> 50mL/min.....	IV-23
<b>Gambar IV.12</b>	Perbandingan Produktivitas Lipid pada Variabel Waktu Kultur 7 dan 20 Hari Dengan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien dengan Penambahan CO <sub>2</sub> 50mL/min.....	IV-24
<b>Gambar IV.13</b>	Hasil Analisa GC Lipid <i>B.braunii</i> Alami dengan Variabel Rendah Nitrogen Waktu Kultur 20 Hari .....	IV-28
<b>Gambar IV.14</b>	Hasil analisa GC menurut penelitian Pieber S. dkk (2012) .....	IV-32
<b>Gambar IV.15</b>	Hasil analisa <i>Thin Layer Chromatography</i> .....	IV-33

*(halaman ini sengaja dikosongkan)*

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel II.1</b>	Kandungan Lipid pada Beberapa Mikroalga....II-1
<b>Tabel II.2</b>	Tabel Propertis <i>Botryococcus braunii</i> .....II-6
<b>Tabel II.3</b>	Kandungan Asam Lemak pada Berbagai Jenis Mikroalga.....II-7
<b>Tabel II.4</b>	Jenis adsorbent.....II-14
<b>Tabel IV.1</b>	Jumlah Sel <i>B.Braunii</i> dengan Asal Budidaya yang Berbeda Selama Kultur 7 Hari.....IV-1
<b>Tabel IV.2</b>	Perbandingan Produktivitas Biomassa Dan Lipid Sel <i>B.braunii</i> Alami dengan Asal Budidaya yang Berbeda.....IV-2
<b>Tabel IV.3</b>	Jumlah Sel <i>B.Braunii</i> Selama Pre-Kultur 7 Hari .....IV-3
<b>Tabel IV.4</b>	Jumlah Sel <i>B.braunii</i> Sebelum dan Sesudah Mutasi Menggunakan Sinar UV-B.....IV-5
<b>Tabel IV.5</b>	Jumlah Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B Selama 7 Hari Kultur.....IV-6
<b>Tabel IV.6</b>	Pertumbuhan Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 Hari dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien Dan Penambahan CO <sub>2</sub> 50 mL/min.....IV-9
<b>Tabel IV.7</b>	Pertumbuhan Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 Hari dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien Tanpa Penambahan CO <sub>2</sub> Murni.....IV-12
<b>Tabel IV.8</b>	Perbandingan Produktivitas Biomassa Dan Lipid Content Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien dengan Penambahan CO <sub>2</sub> 50 mL/min.....IV-15



<b>Tabel IV.9</b>	Perbandingan Produktivitas Biomassa Dan Lipid Content Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien dengan Penambahan CO <sub>2</sub> 50 mL/min.....	IV-16
<b>Tabel IV.10</b>	Perbandingan Produktivitas Biomassa Dan Lipid Content Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien tanpa Penambahan CO <sub>2</sub> murni .....	IV-20
<b>Tabel IV.11</b>	Perbandingan Produktivitas Biomassa Dan Lipid Content Sel <i>B.braunii</i> Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien tanpa Penambahan CO <sub>2</sub> murni.....	IV-20
<b>Tabel IV.12</b>	Perubahan pH pada Variabel dengan Penambahan CO <sub>2</sub> 50 mL/menit.....	IV-26
<b>Tabel IV.13</b>	Perubahan pH pada Variabel dengan tanpa Penambahan CO <sub>2</sub> murni.....	IV-27
<b>Tabel IV.14</b>	Komposisi Senyawa Lipid <i>B.braunii</i> Alami dengan Variabel Rendah Nitrogen Waktu Kultur 20 Hari.....	IV-29
<b>Tabel IV.15</b>	Komposisi Senyawa Lipid <i>B.braunii</i> Alami Dengan Variabel Penambahan CO <sub>2</sub> Murni 50 ml/min Dengan Pelarut n-heksane.....	IV-29
<b>Tabel IV.16</b>	Komposisi Senyawa Lipid <i>B.braunii</i> Alami Dengan Variabel Penambahan CO <sub>2</sub> murni 50 ml/min dengan pelarut n-heksan dan metanol (2:1) Stage 1....	IV-30
<b>Tabel IV.17</b>	Komposisi Senyawa Lipid <i>B.braunii</i> Alami Dengan Variabel Penambahan CO <sub>2</sub> murni 50 ml/min dengan pelarut n-heksan dan metanol (2:1) Stage 2...	IV-30
<b>Tabel IV.18</b>	Komposisi Senyawa Lipid <i>B.braunii</i> Alami Tanpa Penambahan CO <sub>2</sub> Murni dengan pelarut n-heksan.....	IV-31

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **I.1 Latar Belakang**

Indonesia telah dikenal luas sebagai negara maritim yang dua pertiga wilayahnya adalah lautan dan mempunyai garis pantai terpanjang di dunia yaitu  $\pm 80.791,42$  Km ([www.energi.lipi.go.id](http://www.energi.lipi.go.id)). Salah satu makhluk hidup yang tumbuh dan berkembang di laut adalah alga. Mikroalga merupakan salah satu penghasil minyak atau lipid sebagai bahan baku biodiesel yang cukup potensial (Amini dan Susilowati, 2010).

Mikroalga memiliki keunggulan dibanding tanaman penghasil minyak yang lain seperti jarak pagar, bunga matahari, atau minyak sawit karena lahan pertumbuhannya tidak bersaing dengan lahan pertanian konvensional, memiliki kecepatan pertumbuhan yang sangat tinggi dan memiliki komposisi lipid yang lebih bagus sebagai bahan baku biodiesel (Widjaja dkk., 2009). Pada penelitian Mata dkk (2010), dikatakan bahwa kandungan lipid yang terdapat pada mikroalga jenis *Botryococcus braunii* sebesar 25-75%. Lipid mikroalga memiliki kandungan asam lemak bebas (FFA) yang cukup tinggi. Jenis *fatty acid* yang terdapat pada lipid *B. braunii* didominasi oleh asam oleat dan palmitat. Melalui proses esterifikasi dan transesterifikasi biomassa, lipid mikroalga dapat diubah menjadi biodiesel (Faried dkk, 2017).

Mutasi pada mikroorganisme dilakukan untuk memperbaiki sifat alami mikroorganisme. Pada penelitian dengan menggunakan mutagen UV-B dijelaskan bahwa mikroba yang diradiasi dengan sinar UV-B pada dosis yang tepat akan menghasilkan aktivitas yang lebih tinggi dibanding yang alami dikarenakan radiasi sinar UV akan menyebabkan perubahan susunan gen sehingga dihasilkan gen mutan yang dapat menyebabkan peningkatan-peningkatan tertentu pada mikroorganisme (Zul dkk, 2003). Mikroalga merupakan salah satu mikroorganisme yang sering diteliti pengaruhnya terhadap

radiasi UV-B. Skerratt dkk. (1998) meneliti pengaruh mutasi sinar UV-B terhadap kandungan lipid dari mikroorganisme fitoplankton laut antartika. Didapatkan bahwa kadar lipid per selnya meningkat ketika disinari UV-B tingkat tinggi yang disebabkan oleh meningkatnya konsentrasi asam lemak bebas dan mungkin menunjukkan degradasi lipid yang kompleks selama proses penyinaran UV-B tingkat tinggi. Pada penelitian Xue dkk. (2005) dikatakan bahwa pemaparan dengan sinar UV-B secara terus-menerus menurunkan kandungan klorofil, akan tetapi meningkatkan senyawa penyerap UV-B pada alga. Menurunnya fotosintesis pada alga, terutama pada dosis penyinaran UV-B yang tinggi, dipengaruhi oleh efek langsung (efek pada fotosistem) dan tidak langsung (penurunan pigmen). Penurunan pigmen klorofil dan fotosintesis menghasilkan biomassa yang lebih rendah. Akan tetapi, alga telah berevolusi dan membentuk mekanisme pertahanan untuk melindungi diri dari efek merusak dari radiasi UV-B.

Studi mengenai pemanfaatan gas CO<sub>2</sub> terhadap pertumbuhan lipid dari mikroalga jenis *Chlorella vulgaris* disebutkan dalam kondisi nutrisi normal produktivitas lipid meningkat seiring dengan meningkatnya kadar CO<sub>2</sub> yang diberikan (Widjaja dkk, 2009). Pada penelitian lain disebutkan pada mikroalga jenis *Botryococcus braunii* saat diberi tambahan gas CO<sub>2</sub> sebesar 2-20% tidak memperlihatkan suatu hambatan pada pertumbuhannya, sehingga dapat disimpulkan rentang tersebut merupakan rentang yang optimal untuk mempertahankan pertumbuhan mikroalga pada tingkat tertentu (Yaming Ge dkk, 2011). Konsentrasi nitrogen juga berpengaruh untuk meningkatkan total lipid dalam mikroalga. Penurunan kadar nitrogen dalam substrat pada mikroalga *Chlorella vulgaris* dengan masa inkubasi 17 hari menunjukkan bahwa produktivitas lipid mikroalga mengalami peningkatan (Widjaja dkk, 2009). Berbagai studi telah dilakukan untuk meneliti pengaruh kadar CO<sub>2</sub>, nitrogen dan waktu inkubasi dalam substrat terhadap pertumbuhan dan produktivitas lipid mikroalga. Akan tetapi belum ada hasil

mengenai pengaruh kadar CO<sub>2</sub>, nitrogen dalam substrat terhadap pertumbuhan dan peningkatan produksi lipid pada mikroalga *Botryococcus brauni* termutasi UV-B yang nantinya mikroalga ini dapat dijadikan sebagai bahan baku untuk pembuatan biodiesel.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan studi terhadap pertumbuhan dan produksi lipid dari mikroalga *B. Braunii* baik alami maupun termutasi UV-B yang akan dilakukan yaitu kadar CO<sub>2</sub>, kadar Nitrogen dan waktu inkubasi untuk mendapatkan produksi lipid yang terbaik.

## **I.2 Rumusan Masalah**

1. Belum adanya studi mengenai pengaruh penambahan kadar Karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) dan Nitrogen terhadap pertumbuhan dan kadar lipid pada mikroalga *Botryococcus braunii* alami dan yang termutasi sinar UV-B
2. Belum adanya studi perbandingan pengaruh waktu inkubasi terhadap pertumbuhan dan kadar lipid pada mikroalga *Botryococcus braunii* alami dan yang termutasi sinar UV-B.
3. Belum adanya studi perbandingan pertumbuhan dan kadar lipid mikroalga *Botryococcus braunii* alami dan yang termutasi sinar UV-B dengan asal budidaya yang berbeda.

## **I.3 Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui perbandingan pertumbuhan dan kadar lipid mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan asal budidaya yang berbeda.
2. Mengetahui pengaruh penambahan kadar Karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) dan Nitrogen terhadap pertumbuhan dan kadar lipid pada mikroalga *Botryococcus braunii* alami dan yang termutasi sinar UV-B.
3. Mengetahui perbandingan pengaruh waktu inkubasi terhadap pertumbuhan dan kadar lipid mikroalga

*Botryococcus braunii* alami dan yang termutasi sinar UV-B.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### II.1 Potensi Mikroalga dan Bahan Baku Sebagai Biodiesel

Mikroalga adalah alga berukuran mikro yang biasa dijumpai di air tawar dan air laut. Mikroalga adalah mikroorganisme fotosintetik uniseluler yang menggunakan energi matahari dan karbondioksida untuk memproduksi biomassa. Sel-sel mikroalga tumbuh dan berkembang pada media air, itu sebabnya mikroalga memiliki tingkat efisiensi yang lebih tinggi dalam hal penggunaan air, karbondioksida, dan nutrisi lainnya bila dibandingkan dengan tanaman tingkat tinggi seperti jarak, sawit atau bunga matahari. Tergantung dari spesies dan kondisi pertumbuhannya metabolisme mikroalga dapat menghasilkan sel yang kaya akan kandungan karbohidrat, protein, ataupun lipid (Sheehan dkk., 1998).

Mikroalga merupakan organisme mikroskopik, uniseluler dan fototropik yang dibagi dalam 3 kategori yaitu Diatoms (*Bacillariophyceae*), *Green algae* (*Chlorophyceae*) dan *Golden algae* (*Chrysophyceae*). Diatoms merupakan bentuk kehidupan dominan yang ada dalam fitoplankton dan mewakili kumpulan terbesar penghasil biomassa di bumi. Alga hijau (*green algae*) banyak ditemukan di air tawar daripada di air laut. *Golden algae* mirip dengan diatoms dan menghasilkan minyak dan karbohidrat (Bharathiraja dkk, 2015). Terdapat perbedaan pada kandungan lipid pada beberapa jenis mikroalga yang hidup di laut atau di air.

**Tabel II.1** Kandungan Lipid Pada Beberapa Mikroalga

Jenis Mikroalga	Lipid (% berat kering)	Type
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75	Marine
<i>Chlorella sp.</i>	28-32	Freshwater
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20	Marine
<i>Cylindrotheca sp.</i>	16-37	Marine
<i>Dunaliella primolecta</i>	23	Marine

<i>Isochrysis sp.</i>	25-33	Marine
<i>Monallanthus salina</i>	>20	Freshwater
<i>Nannochloris sp.</i>	20-35	Marine
<i>Nannochloropsis sp.</i>	31-68	Marine
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54	Freshwater
<i>Nitzschia sp.</i>	45-47	Marine
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30	Marine
<i>Schizochytrium sp.</i>	50-77	Marine
<i>Tetraselmis sueica</i>	15-23	Freshwater

Kandungan lipid pada mikroalga dapat melebihi 80% berat biomassa kering. Kandungan lipid 20-50% adalah yang paling umum, dengan kandungan lipid *Botryococcus braunii* yang merupakan salah satu yang terbesar yaitu 20-75% berat kering. Produktivitas lipid yaitu massa lipid yang dihasilkan per satuan volume mikroalga per hari, tergantung tingkat pertumbuhan mikroalga, adalah salah satu faktor dalam memproduksi biodiesel (Chisti, 2007).

Mikroalga merupakan sumber biomass yang dapat dijadikan sebagai bahan baku pembuatan biodiesel. Lipid mikroalga merupakan salah satu komposisi yang berpotensi untuk produksi biodiesel berkelanjutan karena mikroalga memiliki tingkat pertumbuhan yang lebih tinggi dan lebih efisien dalam fotosintesis daripada tumbuhan yang lain (Li Fen Wu dkk, 2013). Mikroalga memiliki kandungan lipid 20-50% bahkan sampai 80%, sehingga mikroalga menjadi sumber potensial untuk biodiesel (Chisti, 2007).

## II.2 Faktor-Faktor Pertumbuhan Mikroalga

Untuk mengoptimalkan perkembangbiakkan mikroalga, ada beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga antara lain :

1. Suhu

Suhu dalam media kultur akan mempengaruhi pertumbuhan mikroalga dan produktivitas lipidnya. Mikroalga *B. braunii* memiliki suhu optimal pertumbuhan pada 25-30 °C, dan suhu maksimum pertumbuhan pada 32 °C (Ruangsomboon, 2012).

2. pH

Sebagian besar mikroalga tumbuh pada kondisi pH normal antara 6-8. Akan tetapi beberapa mikroalga jenis *Cyanobacteria* seperti *Spirulina platensis* hanya dapat tumbuh pada kondisi alkali atau basa. Sementara *Chlorella* secara umum dapat hidup dalam kondisi pH antara 7-8 (Hadiyanto, 2012).

3. Cahaya

Cahaya merupakan salah satu faktor terpenting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Cahaya digunakan mikroalga sebagai sumber energi untuk melakukan proses fotosintesis yang dapat diperoleh langsung dari sinar matahari atau sinar lampu. Intensitas cahaya juga mempengaruhi perkembangbiakkan mikroalga. Intensitas cahaya yang rendah menyebabkan penurunan berat kering mikroalga sedangkan intensitas cahaya yang terlalu tinggi menyebabkan kerusakan struktur kimia pada proses fotosintesis. (Ruangsomboon, 2012).

Intensitas cahaya sering disebutkan dalam satuan  $\text{microEinstein/m}^2\text{s}$  atau setara dengan satu mol *photons*. Beberapa satuan lain seperti  $\text{micromol/m}^2\text{s}$ , Lux dan  $\text{W/m}^2$  juga digunakan. Sebagian besar mikroalga tidak dapat tumbuh dengan baik dalam keadaan pencahayaan yang konstan, karena membutuhkan waktu istirahat untuk



menyimpan makanan. Terkadang dilakukan manipulasi durasi pencahayaan *light/dark* (L/D) antara lain 16:8, 14:10 atau 12:12 waktu pencahayaan (Hadiyanto dan Azim, 2012).

4. Karbondioksida (CO<sub>2</sub>)

CO<sub>2</sub> digunakan oleh mikroalga untuk proses fotosintesis seperti tumbuhan berklorofil yang lainnya. Konsentrasi CO<sub>2</sub> di udara hanya sekitar 0,03% dan tidak cukup bagi pertumbuhan mikroalga sehingga diperlukan penambahan CO<sub>2</sub> murni pada proses kultur mikroalga (Yaming Ge dkk, 2011).

5. Nitrogen

Mikroalga dapat memanfaatkan sumber nitrat, ammonia atau nitrogen organik seperti urea. Secara garis besar nitrogen mempengaruhi pertumbuhan dari sel mikroalga seperti kandungan lipid dan protein. (Becker, 2003). Nitrogen adalah unsur fungsional dan struktural pembentuk protein dalam sel alga dan menyumbang 7-20 % berat kering sel. Defisiensi nitrogen dalam kultur alga meningkatkan biosintesis dan akumulasi lipid. Keterbatasan nitrogen dapat dianggap sebagai tekanan lingkungan yang efisien untuk meningkatkan akumulasi lemak (Kalla, 2016). Penurunan kadar nitrogen dalam substrat pada mikroalga *Chlorella vulgaris* menunjukkan bahwa produktivitas lipid mikroalga mengalami peningkatan (Widjaja dkk, 2009).

6. Salinitas

Salinitas merupakan faktor lingkungan yang sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan komponen biokimia mikroalga. Mikroalga *B. braunii* dapat tumbuh pada kisaran 0-25 ppt dan tumbuh subur pada 10 ppt. Dalam penelitian lebih lanjut dikemukakan bahwa kelimpahan dan laju pertumbuhan *B. braunii* tertinggi terjadi pada salinitas 5 ppt yaitu dengan kelimpahan 6,9

log sel/mL dan laju pertumbuhan 1,9/hari (Amini dkk, 2010).

### II.3 *Botryococcus braunii*

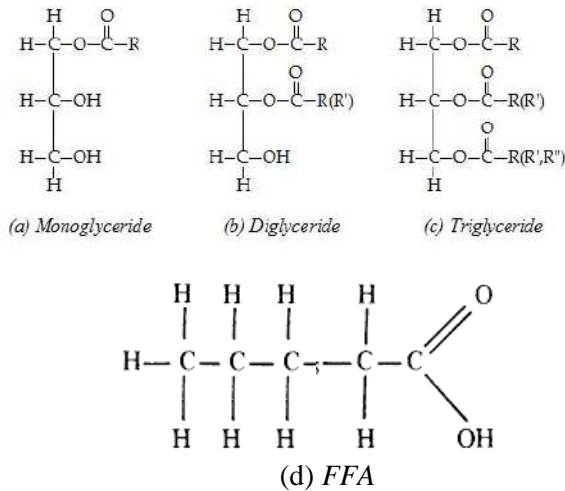
Salah satu mikroalga yang dapat diolah menjadi biodiesel salah satunya adalah *Botryococcus braunii*. *B. braunii* adalah mikroalga sel tunggal berwarna hijau dari kelas *Chlorophyceae* yang hidup di lingkungan air tawar sampai air laut (Amini dkk, 2010).



**Gambar II.1** *Botryococcus braunii*

Kandungan klorofil *B. braunii* mencapai  $\pm 1,5\%$ - $2,8\%$  terdiri dari klorofil a, b, c yang akan terlihat berwarna hijau-coklat kekuningan. *B. braunii* memiliki inti sel dengan ukuran  $\pm 15$ - $20\ \mu\text{m}$  dan berkoloni, bersifat non-motil dan setiap pergerakannya sangat dipengaruhi oleh arus perairan (Saputro dkk, 2015). Kandungan lipid spesies *Botryococcus braunii* dapat melebihi kandungan lipid pada tanaman lainnya seperti kelapa, jarak, dan sawit. Kandungan lipid yang tinggi mengindikasikan kandungan senyawa asam lemak bebas (*free fatty acid*) yang tinggi dalam mikroalga. Semakin banyak kandungan FFA dalam suatu bahan, maka semakin besar pula biodiesel yang dihasilkan (Rini dkk, 2014).

Lipid mikroalga memiliki kandungan asam lemak bebas (FFA) yang cukup tinggi. Jenis *fatty acid* yang terdapat pada lipid *B. braunii* didominasi oleh asam oleat dan palmitat. Melalui proses esterifikasi dan transesterifikasi biomassa, lipid mikroalga dapat diubah menjadi biodiesel (Faried dkk, 2017). Berikut ini merupakan struktur kimia dari FFA, MG, DG dan TG:



**Gambar II.2** Struktur dari (a) Monogliserida (b) Digliserida (c) Trigliserida (d) FFA

Berikut adalah properti total lipid di dalam mikroalga *Botryococcus braunii* :

**Tabel II.2** Tabel Propertis *Botryococcus braunii*

Propertis	Nilai
Hydrocarbon content	22,6 wt %
Total lipid content	51,5 wt %
Saponification value	184
Free fatty acids	9,7 wt %
Ester value	163
Iodine value	92
Carotenes and pigments	8,2 wt %

<i>Ash content</i>	0,0001 wt %
<i>Moisture (wt%)</i>	0,019
<i>Average molecular weight of total lipid fraction</i>	920 g/mol

**Tabel II.3** Kandungan Asam Lemak pada Beberapa Jenis Mikroalga

Jenis asam lemak	Kandungan asam lemak (%)						
	<i>Chlorella sp</i>	<i>Dunaliella sp</i>	<i>Nanno cloropsis</i>	<i>Porphyridium</i>	<i>Spirulina sp</i>	<i>Tetrase lmis</i>	<i>B. braunii</i>
As. miristat (C14:0)	6,71	8,12	87,35	6,90	11,64	5,37	3,04
As. palmiat (C16:0)	5,95	6,43	20,05	6,04	10,34	6,82	14,11
As. stearat (C18:0)	4,25	8,21	16,68	7,82	8,74	2,17	9,06
As. oleat (C18:1)	24,27	64,20	101,50	26,64	32,76	24,21	14,04
As. linoleat (C18:2)	5,58	32,48	49,02	10,76	21,27	21,07	0,27

Berdasarkan penelitian Ashokkumar dkk (2014), kandungan FFA sebesar 9,7 % pada awalnya, dapat diturunkan menjadi 0,55 % melalui proses esterifikasi dengan katalis asam, dan dihasilkan metil ester sebesar 38%.

Studi menunjukkan bahwa mikroalga yang disuplai dengan 0,04 % CO<sub>2</sub> akan menghasilkan persentase asam palmitat (C16 : 0) paling tinggi. Sedangkan mikroalga yang disuplai dengan 10% CO<sub>2</sub> akan menghasilkan asam palmit-oleat (C16 : 1) lebih tinggi. Lipid mikroalga dengan kandungan asam lemak C16 – 18 yang tinggi ternyata bagus untuk digunakan sebagai bahan baku produksi biodiesel (Ruangsomboon, 2017).

## **II.4 Mutasi Genetika**

Pengembangan organisme yang layak bagi industri dari jenis alami, akan membutuhkan perubahan dalam informasi genetiknya yang dapat menghilangkan berbagai sifat yang tidak dikehendaki atau bahkan mengenalkan sifat yang baru sama sekali. Perbaikan produktivitas melalui mutagenesis dengan cara induksi mutagen atau titer sudah sejak lama digunakan (Smith, 1992). Untuk mendapatkan mutan yang tahan terhadap asam maka seleksi mutan dilakukan dengan menumbuhkannya pada media asam yaitu 4,5.

Mutasi pada mikroorganisme dilakukan untuk memperbaiki sifat alami mikroorganisme. Mikroalga merupakan salah satu mikroorganisme yang sering diteliti pengaruhnya terhadap radiasi UV-B. Mutasi dengan disinari UV-B tingkat tinggi membuat kandungan lipid dari mikroorganisme fitoplankton laut antartika meningkat. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya konsentrasi asam lemak bebas dan mungkin menunjukkan degradasi lipid yang kompleks selama proses penyinaran UV-B tingkat tinggi (Skerratt dkk, 1998). Pada penelitian Xue dkk. (2005) dikatakan bahwa pemaparan dengan sinar UV-B secara terus-menerus menurunkan kandungan klorofil, akan tetapi meningkatkan senyawa penyerap UV-B pada alga. Menurunnya fotosintesis pada alga, terutama pada dosis penyinaran UV-B yang tinggi, dipengaruhi oleh efek langsung (efek pada fotosistem) dan tidak langsung (penurunan pigmen). Penurunan pigmen klorofil dan fotosintesis menghasilkan biomassa yang lebih rendah. Akan tetapi, alga telah berevolusi dan membentuk mekanisme pertahanan untuk melindungi diri dari efek merusak dari radiasi UV-B.

## **II.5 Sinar Ultraviolet (UV)**

Sinar Ultraviolet (UV) merupakan salah satu sinar dengan daya radiasi yang dapat bersifat letal bagi mikroorganisme. Sinar UV mempunyai panjang gelombang 4-400 nm dengan efisiensi

tertinggi untuk pengendalian mikroorganisme pada 365 nm. Salah satu sifat sinar UV adalah daya penetrasi yang sangat rendah. Selapis kaca tipis sudah mampu menahan sebagian besar sinar UV. Oleh karena itu, sinar UV hanya dapat efektif untuk mengendalikan mikroorganisme pada permukaan yang terpapar langsung oleh sinar UV, atau mikroba berada di dekat permukaan medium yang transparan (www.litbang.depkes.go.id, 2006). Gelombang Ultraviolet dibagi menjadi 3, yaitu:

- UV-A

Panjang gelombang dari Ultraviolet ini 315 - 400 nm. Namun pada kisaran 380-400 nm, sinar ini tampak oleh mata, sebab pada kisaran tersebut, masih disebut cahaya ungu (violet). Dari semua jenis Ultraviolet, UV-A memiliki energi paling kecil namun memiliki panjang gelombang terpanjang.

- UV-B

Panjang gelombang dari gelombang ini antara 280-315 nm. Kemampuan membunuh mikroorganisme sudah dapat dilakukan pada UV jenis ini. Namun tidak sempurna, artinya mikroorganisme masih dapat berkembang biak walaupun terjadi cacat pada bagian tubuhnya. Kemampuan UV-B ini hanya sampai merusak dinding sel mikroorganisme.

- UV-C

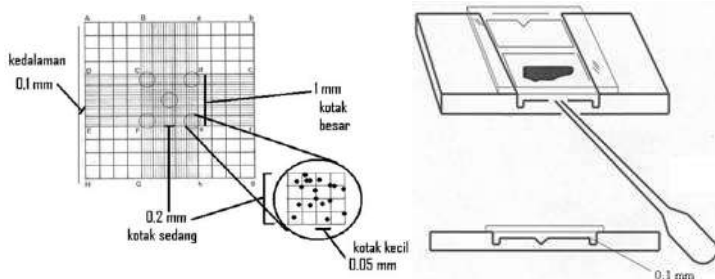
Memiliki panjang gelombang antara 100-280 nm. Bersifat germidical. Namun, atmosfer bumi tidak dapat ditembus oleh UV jenis ini. Hal ini dikarenakan foton pada UV-C akan berinteraksi dengan Oksigen (O<sub>2</sub>).

## **II.6 Cara Mengukur Pertumbuhan Mikroalga**

### **Metode *Counting Chamber***

Salah satu cara menentukan konsentrasi sel suatu mikroorganisme adalah dengan menggunakan metode *counting chamber*. Metode ini menggunakan alat hemasitometer dan mikroskop. Hemasitometer merupakan alat yang dapat digunakan untuk menentukan jumlah sel dalam milimeter kubik (mm<sup>3</sup>)

dimana sel yang akan diukur harus diencerkan terlebih dahulu. Penentuan jumlah sel menggunakan alat ini dilakukan dengan meletakkan hemasitometer pada meja obyek mikroskop dan dengan menggunakan perbesaran obyektif, dapat dihitung jumlah sel yang ada (Benson, 2001).



**Gambar II.3** Perhitungan Jumlah Sel dengan Hemasitometer

Langkah awal dalam metode ini adalah dengan membuat seri pengenceran sampel yang selanjutnya jumlah koloni sampel diamati menggunakan mikroskop. Dalam melakukan penghitungan ini, mula-mula hemasitometer dibersihkan dengan aquadest agar pengamatan dapat dilakukan dengan jelas. Kemudian meneteskan setetes suspensi sampel pada hemasitometer, lalu ditutup dengan *deck glass*. Setelah itu meletakkan hemasitometer pada meja obyek mikroskop dan dilakukan pengamatan dengan perbesaran obyektif 100x. Posisi hemasitometer dan pencahayaan mikroskop diatur hingga terlihat garis-garis dan kotak-kotak hemasitometer. Kemudian menentukan 5 kotak untuk menghitung jumlah sel pada kotak-kotak tersebut. Jumlah mikroorganisme dalam sampel ditentukan dengan mengalikan jumlah koloni yang teramati dengan faktor pengenceran.

## II.7 Ekstraksi Lipid

Metode ekstraksi lipid bisa dilakukan dengan beberapa cara seperti berikut:

- Metode Ekstraksi

Minyak dari alga dapat di ekstrak dengan menggunakan larutan kimia, misalnya dengan menggunakan benzena, ether, dan heksana. Penggunaan larutan kimia heksana lebih banyak digunakan sebab harganya tidak terlalu mahal. Menurut Amini (2005), larutan heksana dapat digunakan langsung untuk mengekstraksi minyak dari alga. Setelah proses ekstraksi, larutan ekstrak yang terdiri dari campuran heksan dan minyak kemudian dipisahkan dengan menggunakan distilasi sederhana yang menggunakan kondensor.

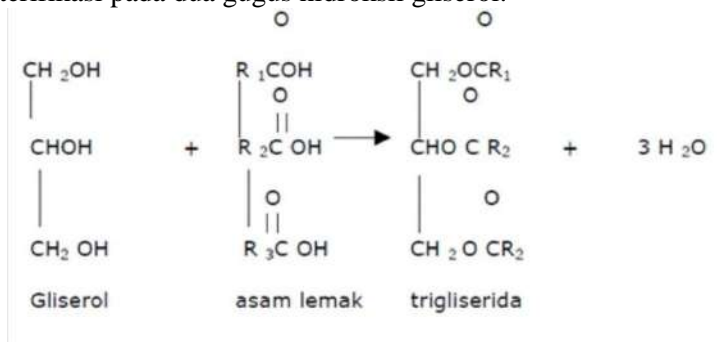
- Metode Mekanik

Metode mekanik terdiri dari metode pengepresan (*expeller/press*) dan *ultrasonic-assisted extraction*. Pada metode pengepresan (*expeller/press*) alga yang sudah siap panen dikeringkan terlebih dahulu untuk mengurangi kadar air yang masih pada biomassa. Selanjutnya dilakukan pengepresan biomassa dengan alat pengepres untuk mengekstraksi minyak yang terkandung dalam alga. Dengan menggunakan alat pengepres ini, dapat di ekstrasi sekitar 70–75% minyak yang terkandung dalam alga. Pada prinsipnya metode *ultrasonic-assisted extraction* menggunakan reaktor ultrasonik. Gelombang ultrasonik digunakan untuk membuat gelembung kavitasi (*cavitation bubbles*) pada material larutan. Ketika gelembung pecah dekat dengan dinding sel maka akan terbentuk gelombang kejut dan pancaran cairan (*liquid jets*) yang akan membuat dinding sel pecah. Pecahnya dinding sel akan membuat komponen di dalam sel keluar bercampur dengan larutan (Amini dan Susilowati, 2010).

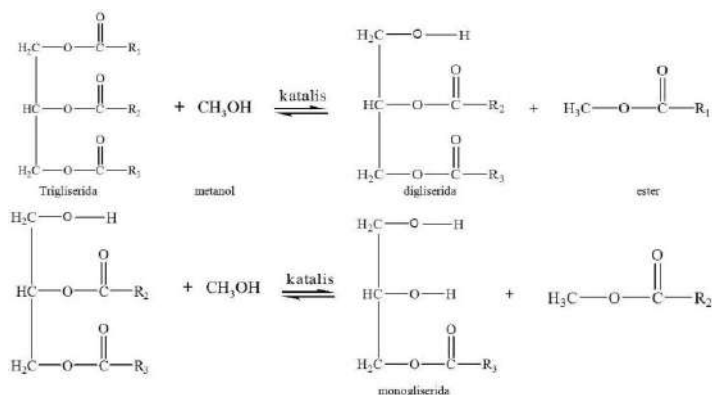


## II.8 Lipid

Triasilgliserol (TAG) merupakan lipid yang terdiri atas gliserol polihidroksi alkohol dan asam karboksilat berantai panjang (asam lemak) seperti **Gambar II.3** dan banyak ditemukan di alam. Triasilgliserol yang banyak mengandung asam lemak jenuh, berbentuk padat pada suhu ruang, dan memiliki titik cair tinggi disebut lemak. Triasilgliserol yang banyak mengandung asam lemak tidak jenuh, berbentuk cair pada suhu ruang, dan memiliki titik cair rendah disebut minyak. Lipid yang umumnya diakumulasi oleh mikroorganisme adalah TAG, karena TAG merupakan komponen utama cadangan energi dalam sel. Monoasilgliserol (MAG) adalah esterifikasi pada satu gugus hidroksil gliserol, sedangkan diasilgliserol (DAG) merupakan esterifikasi pada dua gugus hidroksil gliserol.

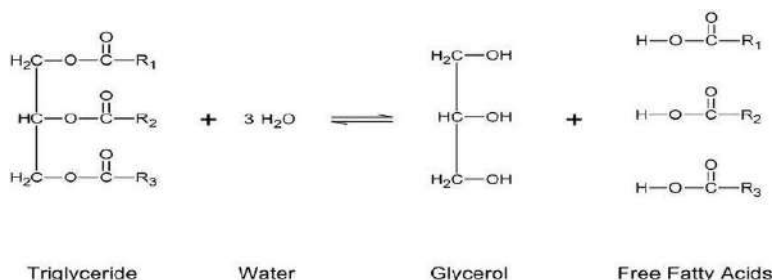


**Gambar II.4** Reaksi Pembentukan TAG



**Gambar II.5** Reaksi Pembentukan DAG dan MAG

Sebagian besar lipid tersusun atas asam lemak. Asam lemak umumnya merupakan asam monokarboksilat berantai lurus dengan jumlah atom karbon sebanyak 4-36. Asam lemak dapat dibagi menjadi dua berdasarkan ada tidaknya ikatan rangkap karbon-karbon, yaitu asam lemak jenuh dan tidak jenuh. Asam lemak jenuh tidak memiliki ikatan rangkap karbon-karbon. Asam lemak tidak jenuh memiliki ikatan rangkap karbon-karbon. Asam lemak jenuh tidak dapat mengalami proses penambahan atom hidrogen pada rantai hidrokarbon atau hidrogenasi (Suryani, 2008).



**Gambar II.6** Reaksi Pembentukan FFA

## II.9 Thin Layer Chromatography (TLC)

*Thin Layer Chromatography* (TLC) merupakan metode yang banyak digunakan untuk pemisahan dan identifikasi suatu senyawa di dalam suatu campuran. TLC menggunakan prinsip yang sama dengan ekstraksi untuk mencapai pemisahan dan pemurnian senyawa, yaitu pemisahan yang berbeda dari senyawa antara dua fase berdasarkan perbedaan kelarutan senyawa dalam dua tahap. Dalam metode TLC, satu fase adalah fase gerak dan fase lainnya adalah fase diam dengan luas permukaan yang tinggi. Fase diam biasanya terdiri dari adsorben halus, contohnya silica ( $\text{SiO}_2$ ), atau alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) yang digunakan dalam bentuk lapisan tipis (sekitar 0,25 mm). Fase gerak terdiri dari pelarut organik yang mudah menguap. Jenis adsorben yang biasa digunakan terdapat pada Tabel II.4.

**Tabel II.4** Jenis *adsorbent*

	<i>Adsorbent</i>
<p>Paling Kuat</p> <p>↓</p> <p>Paling Lemah</p>	Silika Gel
	Alumunium Oksida
	Magnesium Karbonat
	Kalsium Phospat
	Selulosa

TLC terdiri atas tiga langkah yaitu *spotting*, *development*, dan *visualization*. Pada *spotting*, sampel akan ditotolkan pada plate TLC dalam jumlah yang kecil dengan menggunakan *micropipet*. Pada *development*, senyawa-senyawa dalam sampel akan terelusi dengan kecepatan yang tergantung pada sifat senyawa-senyawa tersebut (kemampuan terikan pada fasa diam dan kemampuan larut dalam fasa

gerak). Senyawa non-polar akan lebih sedikit tertarik pada *plate* sehingga akan menghabiskan waktu yang lebih banyak pada fase gerak. Senyawa ini akan bergerak lebih cepat dan muncul lebih dekat dengan puncak dari *plate*. Sedangkan senyawa polar akan lebih tertarik pada *plate* sehingga akan menghabiskan waktu lebih sedikit pada fase gerak dan akan muncul lebih rendah pada *plate*. Pada visualisasi, *spot-spot* dapat secara langsung diamati setelah proses *development*. Namun karena pada umumnya suatu senyawa tidak berwarna, metode visualisasi dibutuhkan. Misalnya pada silika gel dalam *plate* TLC yang akan menampilkan dark spot di bawah sinar ultraviolet atau dengan menempatkan *plate* pada iodine vapor dalam beberapa menit. Senyawa-senyawa organik pada umumnya akan membentuk warna gelap kompleks dengan iodine.

*Thin Layer Chromatography* (TLC) ini adalah analisa kualitatif. Keuntungan dengan menggunakan metode TLC adalah mudah, cepat, dan murah. Namun terkadang juga ada masalah dengan metode ini, misalnya adalah sampel tidak muncul yang kemungkinan dapat disebabkan karena sampel tidak cukup atau dibutuhkan metode visualisasi yang berbeda.

TLC juga digunakan untuk analisa kualitatif pemisahan dan pemurnian triasilgliserol dari minyak nyamplung dengan menggunakan fase gerak heksana, etil asetat, dan asam asetat dengan perbandingan volume 90:10:1. Setelah itu, kertas TLC dikeringkan pada suhu ruang. Untuk membaca hasilnya, kertas TLC dipapar dengan sinar UV 365 nm (Aparamarta dkk., 2016).

## **II.10 Analisa Gas Chromatography (GC)**

*Gas Chromatography* merupakan salah satu metode pemisahan yang paling penting dan paling ekonomis dibanding semua metode pemisahan yang lain. Rentang aplikasi dari GC meliputi analisis gas alam sampai produk petroleum berat (rantai karbon sampai C130), oligosakarida, lipid, dan lain-lain. Analisa

GC (*Gas Chromatography*) merupakan teknik pemisahan yang didasarkan pada distribusi dari komponen untuk dipisahkan menggunakan sistem 2 fase yaitu solid atau liquid (fase diam) dan gas (fase bergerak).

Dalam melakukan analisa, sampel diinjeksikan melalui injector dan komponen yang menguap dibawa menuju ke kolom, dimana pemisahan terjadi. Kolom diletakkan dalam oven dan temperatur bisa dijaga konstan (*isothermal operation*) atau diprogramkan (*temperature-programmed operation*). Setelah pemisahan, berkas komponen meninggalkan kolom dan terekam sebagai fungsi waktu (kromatogram) oleh alat pendeteksi. Hasil *residence time* dari komponen dapat digunakan untuk penafsiran secara kualitatif atau identifikasi komponen. Respon detektor sebanding dengan jumlah komponen sampel yang dipisahkan dan memberikan informasi kuantitatif terhadap komposisi campuran (Gunzler dan Williams, 2001).

## II.11 Penelitian Sebelumnya

- Arief Widjaja, pada tahun 2009 melakukan penelitian berjudul *Study of Increasing Lipid Production from Fresh Water Microalgae Chlorella vulgaris*. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui faktor penting yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga seperti kadar konsentrasi CO<sub>2</sub>, pengurangan nitrogen, waktu pemanenan, serta jenis ekstraksi yang digunakan. Untuk kadar konsentrasi CO<sub>2</sub> yang digunakan yaitu 0 mL/menit; 20 mL/menit; 50 mL/menit; dan 200 mL/menit. Untuk pengurangan kadar Nitrogen dilakukan selama 7 dan 17 hari.

Berdasarkan hasil percobaan, dapat disimpulkan bahwa mikroalga dengan penambahan kadar konsentrasi CO<sub>2</sub> memiliki nilai *Optical Density* (OD) yang cenderung lebih tinggi dibanding mikroalga alami (tanpa penambahan CO<sub>2</sub>), dan nilai *Optical Density* (OD) yang paling baik ditunjukkan oleh penambahan kadar CO<sub>2</sub>

sebanyak 50 mL/menit. Sedangkan pengaruh pengurangan kadar nitrogen dapat disimpulkan pada waktu inkubasi 17 hari menghasilkan kadar lipid paling banyak.

- Zul, Delita, dkk pada tahun 2003, melakukan penelitian berjudul **Mutagenesis pada *Kluyveromyces marxianus* T-2 penghasil Inulinase Ekstraselular dengan Sinar Ultra Violet**. Penelitian dilakukan dalam dua tahap, tahap pertama merupakan mutagenesis *K. marxianus* T-2 dengan sinar uv berpanjang gelombang 254 nm pada berbagai jarak dan waktu radiasi. Panjang gelombang 254 nm dipilih karena penyerapan maksimum DNA terjadi pada panjang gelombang tersebut. Tahap kedua adalah produksi inulinase ekstraselular dari mutan *K. marxianus* T-2 yang diperoleh dari tahap pertama.

Hasil percobaan yang didukung dengan analisis statistik menunjukkan bahwa mutagenesis telah menyebabkan pertumbuhan mutan lebih baik dibandingkan tipe liar. Mutagenesis dengan sinar uv pada *K. marxianus* T-2 menyebabkan penurunan persentase sel hidup, peningkatan pertumbuhan diameter koloni mutan, aktivitas spesifik inulinase ekstraselular, dan penambahan berat kering sel.

Diameter koloni terbesar (8,66 mm), aktivitas spesifik inulinase ekstraselular tertinggi (0,094 U/mg), dan berat kering sel tertinggi (2,37 mg/mL) dihasilkan oleh mutan *K. marxianus* T-2 yang diradiasi pada jarak 30 cm dengan waktu 60 detik.

- Skerratt dkk, pada tahun 1998 melakukan penelitian berjudul ***Effect of UV-B on Lipid Content of Three Antarctic Marine Phytoplankton***. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perubahan spesies terutama kadar lipid dan komposisi terhadap penyinaran sinar UV-B baik yang rendah maupun tinggi terhadap 3 fitoplankton antartika. Hasil yang didapat bahwa pada

fitoplankton laut kadar lipid per sel nya meningkat ketika disinari UV-B tingkat tinggi yang disebabkan oleh meningkatnya konsentrasi *free fatty acid* dan mungkin menunjukkan degradasi lipid yang kompleks selama proses penyinaran UV-B tingkat tinggi.

- Rao, A. Ranga,dkk, pada tahun 2012,melakukan penelitian berjudul ***Cultivation of green alga Botryococcus braunii in Raceway, Circular Ponds Under Outdoor Conditions and Its Growth, Hydrocarbon Production.*** Penelitian ini menggunakan Metode mikro stain alga yaitu strains *B.braunii* yang diperoleh dari pembudidayaan *B. braunii* yang diperoleh dari pembudidayaan dari UTEX culture. Kemudian inokulasi 25% *Botryococcus braunii* (panjang 1,13 m; lebar 0,6 m; lebar 0,3 m) di bawah kondisi agitasi 15 rpm.

Proses kulvitasi dilakukan selama 18 hari serta digunakan Analisa Estimasi Volum *B. braunii* hasil sisa ekstrak dengan methanol di ulang-ulang. Kemudian membaca absorbansi ekstrak pada 645 dan 661,5 nm.

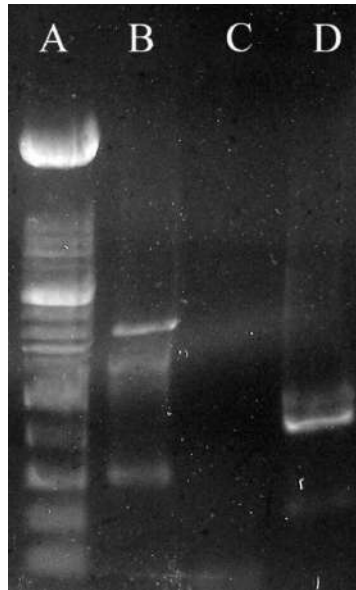
Dapat disimpulkan bahwa *Botryococcus braunii* akan memproduksi hidrokarbon dan seluruhnya untuk memperbaiki metode pengolahan dan memfokuskan pengolahan *Botryococcus braunii* dibawah kondisi pertumbuhan.

- Mulyawan dan Setyowati, pada tahun 2015 melakukan penelitian berjudul **Pengaruh Mutagen Sinar UV-B dan HNO<sub>2</sub> terhadap Pertumbuhan Mikroalga Botryococcus braunii.** Pada penelitian ini, dilakukan mutasi terhadap *B.braunii* dengan mutagen HNO<sub>2</sub> dan sinar UV-B. Mutasi dengan sinar UV-B dilakukan dengan beberapa variabel *exposure time*, yaitu 1,5 menit, 3 menit, dan 30 menit. Untuk mutasi dengan HNO<sub>2</sub> pada *B.braunii* dilakukan dengan cara menambahkan HNO<sub>2</sub> sebanyak 20 ml pada media tumbuh mikroalga (perbandingan 1:1 untuk HNO<sub>2</sub> dan mikroalga alami).

Lalu ditambahkan air laut sebanyak 80 ml dengan perbandingan 1:4. Untuk mengetahui perubahan struktur alami dan mutasi dilakukan dengan dua tahap analisa PCR. PCR tahap pertama menggunakan sepasang universal primer, ITS1 (5-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3) dan ITS4 (5-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3), sedangkan PCR tahap dua menggunakan set primer yang menargetkan *B. braunii*, yakni BITS1 (5-AAGGATCATTGAACAYGTCWG-3) dan BITS4 (5-TTAAGTTCAGCGGGTGCTC-3). Hasil PCR *product* tahap kedua yang dianalisa elektroforesis menggunakan gel *agarose* 2%.

Dapat disimpulkan bahwa mutagenesis dapat menaikkan produktivitas jumlah sel. Dari semua variabel mutasi, proses mutasi UV-B dengan lama paparan 1,5 menit merupakan dosis terbaik yang dibuktikan dengan produktivitas sel yang lebih baik jika dibandingkan dengan variabel lama paparan yang lain.





**Gambar II.7** Elektroforesis Produk PCR dengan Gel Agarose 1% yang Telah Diwarnai *Red Safe*. (A) DNA Marker (B) DNA *B.braunii* Mutan  $\text{HNO}_2$  (C) DNA *B.braunii* Mutan UV-B.

Pada **Gambar II.7**, untuk DNA *Botryococcus braunii* alami menampilkan *band* pada 450 bp, hal ini sudah sesuai dengan primer BITS1 dan BITS4 yang spesifik menargetkan spesies *Botryococcus braunii*. Pada DNA *Botryococcus braunii* yang mendapat perlakuan mutasi menggunakan UV-B menunjukkan band pada tiga titik, yakni pada 300 bp, 500 bp dan 700 bp, hal ini menunjukkan bahwa DNA *B.braunii* mutan UV-B memiliki band pada bp yang berbeda dengan *B.braunii* alami.

- Hariseno dan Nuristiandari, pada tahun 2015 melakukan penelitian yang berjudul **Pengaruh Mutagen HNO<sub>2</sub> dan Sinar UV-B terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Lipid Mikroalga**. Pada penelitian ini dilakukan mutasi terhadap *Botryococcus braunii* dan *Chlorella vulgaris* dengan menggunakan sinar UV-B dan HNO<sub>2</sub>. Penelitian ini menggunakan prosedur yang sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Mulyawan 2015 dengan hasil yang serupa dimana dosis pemaparan UV-B selama 1,5 menit merupakan yang terbaik. Akan tetapi untuk mikroalga *Chlorella vulgaris* tidak menunjukkan adanya peningkatan produktivitas sel setelah dilakukan mutasi dibanding sel alaminya.
- Faisal dan Maharani, pada tahun 2016 telah melakukan penelitian yang berjudul **Pengaruh Kadar CO<sub>2</sub> terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Lipid Mikroalga *Botryococcus braunii* Termutasi UV-B**. Variabel waktu pemaparan sinar UV-B sama dengan yang dilakukan Mukti Mulyawan dan Eny Setyowati pada tahun 2015, sedangkan variabel konsentrasi CO<sub>2</sub> yang digunakan yaitu 0 mL/menit, 50 mL/menit dan 200 mL/menit.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Penambahan CO<sub>2</sub> pada mikroalga mutan mempunyai tingkat pertumbuhan sel lebih baik dibanding penambahan CO<sub>2</sub> pada mikroalga alami dan produktivitas lipid paling tinggi dihasilkan oleh mikroalga mutan 1,5 menit sebesar 0,340 (mg/mL)/hari. Hal ini menunjukkan bahwa mutagen UV-B dengan *exposure time* 1,5 menit merupakan mutagen yang paling efektif untuk meningkatkan produktivitas lipid.

- Cecilia dan Kristian, pada tahun 2017 telah melakukan penelitian yang berjudul **Pengaruh Siklus Pencahayaan terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Lipid Mikroalga *Botryococcus braunii* Termutasi UV-B dan Alami**. Penelitian ini menggunakan variabel siklus pencahayaan (terang : gelap) yaitu 12 jam : 12 jam ; 16 jam : 8 jam ; dan 24 jam : 0 jam. Sedangkan variabel mikroalga yang digunakan yaitu *Botryococcus braunii* yang telah termutasi UV-B dan alami. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa siklus pencahayaan (terang : gelap) 24 : 0 jam memiliki pertumbuhan sel paling pesat pada mikroalga alami daripada siklus pencahayaan 12 : 12 jam pada mikroalga mutan dan produktivitas lipid paling tinggi dihasilkan oleh mikroalga alami variabel 24 : 0 jam. Hal ini menunjukkan bahwa siklus pencahayaan 24 : 0 jam pada mikroalga alami merupakan mikroalga yang paling efektif untuk meningkatkan pertumbuhan sel dan produktivitas lipid
- Generis dan Megarani pada tahun 2017 telah melakukan penelitian yang berjudul **Pengaruh Kadar Nitrogen terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Lipid Mikroalga *Botryococcus braunii* Termutasi UV-B**. Penelitian ini menggunakan variabel nitrogen dengan kadar nutrient normal dan pengurangan kadar nutrient. Untuk variabel waktu inkubasi adalah 7 hari dan 20 hari. Sedangkan variabel mikroalga yang digunakan yaitu *Botryococcus braunii* yang telah termutasi UV-B dan alami. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa *Botryococcus braunii* yang telah termutasi UV-B dengan pengurangan kadar nutrient serta waktu inkubasi selama 20 hari memiliki jumlah lipid yang paling tinggi.

## **II.12 Penelitian Selanjutnya**

Terdapat beberapa perbedaan antara penelitian yang akan dilakukan dengan penelitian sebelumnya, yaitu terdapat 3 variabel yang berhubungan langsung dengan pertumbuhan dan kadar lipid dari mikroalga *Botryococcus braunii*. Variabel tersebut adalah pengaruh kadar CO<sub>2</sub>, pengurangan nitrogen dan waktu inkubasi. Selain itu, terdapat metode baru pada saat kultivasi untuk memastikan agar jumlah sel pada mikroalga *Botryococcus braunii* terus meningkat.

*(halaman ini sengaja dikosongkan)*

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh kadar CO<sub>2</sub>, nitrogen dan waktu inkubasi terhadap pertumbuhan dan produktivitas lipid mikroalga *Botryococcus braunii* termutasi UV-B. Penelitian diawali dengan melakukan proses prekultuur mikroalga selama 7 hari kemudian melakukan mutasi menggunakan sinar UV-B, dilanjutkan dengan penambahan CO<sub>2</sub>, siklus pencahayaan dan pemberian nutrient dengan kadar nitrogen normal dan penurunan kadar nitrogen dalam NaNO<sub>3</sub> selama 20 hari. Kemudian dilakukan pemanenan, pemisahan biomassa mikroalga dari medianya dengan alat *sentrifuge* dan ekstraksi lipid. Untuk mengetahui kandungan asam lemak bebas dan trigliserida (FFA dan TAG) yang dihasilkan oleh mikroalga dilakukan analisa GC (*Gas Chromatography*).

#### **III.1 Variabel Penelitian**

##### **III.1.1 Kondisi Operasi**

1. Intensitas cahaya 6.000 lux, jarak 3 cm dari wadah mikroalga.
2. Siklus pencahayaan (gelap: terang)= 24 jam : 0 jam
3. Suhu 30 °C
4. Aerasi = 2,5 L/menit

##### **III.1.2 Variabel Penelitian**

1. Jenis bibit mikroalga *Botryococcus braunii* : Balai Budidaya Air Payau Situbondo dan Jepara.
2. Mikroalga *Botryococcus braunii* termutasi UV-B dan alami.
3. Penambahan kadar konsentrasi CO<sub>2</sub> pada 500 mL media kultur: 0 mL/menit dan 50 mL/menit
4. Nutrient Walne normal dengan komposisi NaNO<sub>3</sub> 100 mg/L  
Nutrient Walne penurunan kadar nitrogen dengan komposisi NaNO<sub>3</sub> 0,03 mg/L

5. Waktu inkubasi : 7 dan 20 hari

### **III.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2018 – Juni 2018. Proses budidaya kultur mikroalga, analisa jumlah sel, ekstraksi lipid, analisa *Gas Chromatography* dan Analisa *TLC* dilakukan di Laboratorium Teknologi Biokimia, Jurusan Teknik Kimia, ITS Surabaya. Pengukuran kadar salinitas air laut di Laboratorium Ekologi, Jurusan Biologi, ITS Surabaya.

### **III.3 Bahan dan Alat Penelitian**

#### **III.3.1 Bahan Penelitian**

1. Bibit mikroalga *Botryococcus braunii* (Balai Budidaya Air Payau Situbondo dan Jepara)
2. *Aquadest*.
3. Air laut (Balai Budidaya Air Payau Situbondo, Jawa Timur).
4. Nutrien Walne normal, yang memiliki komposisi per 1 Liter pelarut mengacu pada Isnansetyo & Kurniastuty (1995): 100 mg/L  $\text{NaNO}_3$ , 45 mg/L  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ; 33,6 mg/L  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 20 mg/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 1,3 mg/L  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 0,36 mg/L  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1 mg/L Vitamin B1; 0,005 mg/L Vitamin B12.  
Dan nutrient walne dengan penurunan kadar nitorgen yang memiliki komposisi per 1 Liter pelarut: 0,03 mg/L  $\text{NaNO}_3$ , 45 mg/L  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ; 33,6 mg/L  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 20 mg/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 1,3 mg/L  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 0,36 mg/L  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; 0,1 mg/L Vitamin B1; 0,005 mg/L Vitamin B12.
5. Gas  $\text{CO}_2$  (Aneka Gas, Sidoarjo).
6. Pelarut *N-hexane*.

### III.3.2 Alat Penelitian

- **Perlengkapan Dasar**
  1. Erlenmeyer 500 mL
  2. *Beaker glass* 5 L
  3. Pipet ukur 10 mL
  4. Pipet tetes
  5. Corong kaca
  6. Kertas pH
  7. Gelas ukur 100 mL
- **Kultur Mikroalga**
  1. *Autoclave* (Astell Scientific, Inggris)
  2. Kompresor (Imola-75)
  3. Lampu *Fluorescent* Putih 21 W (Glorious TS, China)
  4. Lux Meter Lutron LX-105 (Taipei, Taiwan)
  5. *Hand Refractometer Manual* (Atago, Tokyo)
- **Mutasi**
  1. Lampu UV-B 20 W (Evaco F 20T0 GL – Prancis)
  2. *Petridish*
- **Ekstraksi dan Pemisahan Lipid**
  1. *Centrifuge* (Hermle, Jerman)
  2. Botol *Centrifuge*
  3. *Analitical Balance* (Ohaus, China)
  4. *Round Bottom Flask* 500 mL (Schott Duran)
  5. Ekstraktor *Soxhlet* (Brand Germany)
  6. *Condensor reflux*
  7. *Filter Paper* (Whatman)
  8. Oven (Sheldon, USA)
  9. *Hot plate* 34530 (Snijders)
  10. Labu distilasi 500 mL (Iwaki Pyrex)
  11. *Condensor liebig*
  12. Ultrasonication
- **Peralatan Perhitungan Jumlah Sel**
  1. *Biological Microscope* (Novel, China)
  2. Hemasitometer (Brand – Jerman)



- **Analisa GC**
  1. Shimadzu GC-2010
  2. Kolom Agilent ZB-5HT

### **III.4 Kondisi Operasi Penelitian**

#### **Tahap I : Kultur *Botryococcus braunii* Termutasi UV-B**

1. Mikroalga *Botryococcus braunii* berasal dari Balai Budidaya Air Payau, Situbondo dan Jepara.
2. Kondisi tumbuh *Botryococcus branuii*
  - ✓ Salinitas air laut 21 ppm
  - ✓ Suhu (27 – 31 °C)
  - ✓ Intensitas cahaya 6.000 lux
  - ✓ Waktu kultur 7 hari
3. Kondisi operasi mutasi *Botryococcus braunii*
  - ✓ Jarak lampu UV-B ke *petridish* 3 cm
4. Kondisi operasi penambahan kadar CO<sub>2</sub>, siklus pencahayaan dan penurunan kadar nitrogen
  - ✓ Mikroalga *Botryococcus braunii* alami dan termutasi UV-B masing-masing sebanyak 500 mL
  - ✓ Penambahan kadar CO<sub>2</sub> = 0 dan 50 mL/menit
  - ✓ Rasio pencahayaan terang : gelap = 24 : 0 jam
  - ✓ 0,5 ml Nutrien Walne normal dan 0,5 ml Nutrien Walne dengan penurunan nitrogen dalam NaNO<sub>3</sub> setiap 24 jam
  - ✓ Pengenceran dilakukan apabila terdapat penurunan jumlah sel mikroalga
  - ✓ Waktu kultur : 7 dan 20 hari

#### **Tahap II : Ekstraksi Lipid**

1. Kondisi Operasi Ultrasonikasi
  - ✓ Waktu Ultrasonikasi : 30 menit
  - ✓ Suhu Operasi : 60 °C
2. Kondisi operasi ekstraksi *soxhlet*
  - ✓ Waktu ekstraksi : 6 jam

- ✓ Pelarut : n-heksan 150 mL
  - ✓ Suhu operasi : 70 °C
  - ✓ Menggunakan air pendingin dengan suhu 10-15 °C
3. Kondisi operasi distilasi
- ✓ Suhu operasi : 70 °C
  - ✓ Waktu distilasi : 2 jam
  - ✓ Menggunakan air pendingin dengan suhu 10-15 °C

### III.5 Analisa Penelitian

- a. Analisa kadar salinitas menggunakan *hand refractometer*.
- b. Analisa intensitas cahaya menggunakan *lux meter*.
- c. Pengecekan pH menggunakan kertas pH (tiap 24 jam).
- d. Analisa jumlah sel dengan metode *counting chamber* (tiap 24 jam).
- e. Analisa kandungan lipid menggunakan *Gas Chromatography*.
- f. Analisa kandungan lipid menggunakan *Thin Layer Chromatography*.

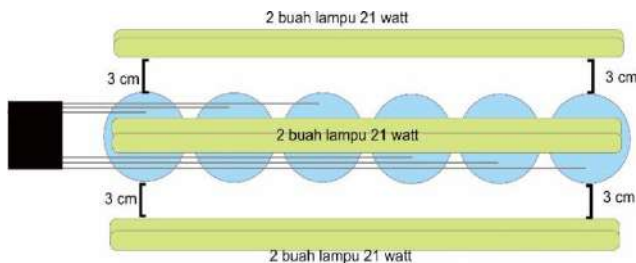
### III.6 Data yang Dihasilkan

- ✓ Pertumbuhan *Botryococcus braunii*
- ✓ Perubahan pH
- ✓ Perbandingan sel akhir dan sel awal
- ✓ Perbandingan sel akhir mutan dengan sel akhir alami
- ✓ Perbandingan biomassa dari *Botryococcus braunii*
- ✓ Kandungan lipid dari *Botryococcus braunii*
- ✓ Analisa kuantitatif lipid menggunakan GC
- ✓ Analisa kualitatif lipid menggunakan TLC

### III.7 Gambar Alat Kultur



**Gambar III.1** Rangkaian Alat Kultur Mikroalga



**Gambar III.2** Desain Alat Kultur Tampak Atas

Desain alat kultur pada penelitian ini, mikroalga ditempatkan pada *erlenmeyer* ukuran 500 mL yang ditutup menggunakan *plastic wrap* bening untuk menghindari kontaminasi. Diberikan sirkulasi udara (dari kompresor melalui selang-selang) di dalamnya. Lampu *flouresence* dipasang pada posisi atas, depan dan belakang dari wadah mikroalga dengan jarak 3 cm.

### **III.8 Tahapan Metode Penelitian**

#### **III.8.1 Sterilisasi Bahan dan Alat**

Air laut dari Balai Budidaya Air Payau Situbondo, Jawa Timur dengan kadar salinitas sebesar 21 ppm, akan digunakan untuk kultur sebanyak 500 mL dituangkan dalam *erlenmeyer* kemudian disegel dan disterilisasi dengan *autoclave* pada temperatur 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15-20 menit, begitu pula dengan alat-alat yang akan digunakan seperti *erlenmeyer* ukuran 500 mL tempat medium, *petridish* serta alat-alat lain disterilisasi dengan cara yang sama.

#### **III.8.2 Membuat Nutrient Walne dengan Penurunan Kadar Nitrogen dalam NaNO<sub>3</sub>**

Dengan mengacu pada Isnansetyo & Kurniastuty (1995), untuk mempermudah penimbangan dan penggunaan nutrien maka perlu dibuat dalam fasa liquid/ cair. Nutrien biasanya dibuat dengan penggunaan standar 1 mL/L, sehingga konsentrasi semua bahan nutrien harus 1000/ 1 kali. Oleh karena itu konsentrasi setiap bahan penyusun dikalikan dengan 1000, sehingga didapatkan komposisi bahan untuk walne sebagai berikut: 0,03 mg/L NaNO<sub>3</sub>, 45 mg/L Na<sub>2</sub>EDTA; 33,6 mg/L H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 20 mg/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; 1,3 mg/L FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O; 0,36 mg/L MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O.

Untuk pembuatan vitamin dibuat dalam 100 mL, sehingga masing-masing bahan larutan vitamin dikalikan 1000. Komposisi larutan vitamin menjadi: 0,1 mg/L Vitamin B1, 0,005 mg/L Vitamin B1.

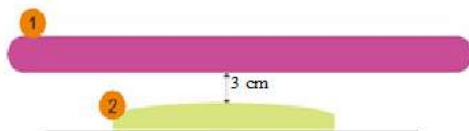
#### **III.8.3 Pre-Kultur Mikroalga *Botryococcus braunii***

Tempat yang digunakan untuk budidaya mikroalga *B.braunii* adalah *erlenmeyer* bervolume 500 mL, dengan menggunakan rangkaian alat seperti pada **Gambar III.1**. Sebelum digunakan, semua alat-alat yang akan digunakan telah disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C untuk membunuh mikroorganisme.

Langkah pertama adalah mengocok secara perlahan bibit mikroalga yang terdapat dalam botol sampai keadaan homogen (tidak ada mikroalga yang menempel pada dinding botol). Kemudian memanaskan air laut sebanyak 250 mL sampai suhu ruang (30 °C). Selanjutnya menuangkan 250 mL bibit mikroalga ke dalam *erlenmeyer* secara perlahan kemudian mencampur air laut hangat dengan bibit mikroalga sehingga mencapai konsentrasi 1:1. Tujuan proses pemanasan air laut adalah untuk mengkondisikan suhu optimal media tumbuh mikroalga, dimana mikroalga dapat tumbuh optimal pada suhu 23 – 30 °C.

Selanjutnya memasukkan *sparger* ke dalam *erlenmeyer* yang berfungsi untuk sirkulasi udara sehingga terjadi secara kontinyu dengan laju alir sebesar 2,5 L/menit. Lampu 21 watt dipasang sebanyak 2 buah pada sisi depan, belakang, dan dibagian atas *erlenmeyer* dengan jarak masing-masing 3 cm. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Widjaja (2009). Lampu diatur dengan keadaan 24 jam terang dan 0 jam gelap, dengan intensitas cahaya lebih dari 6000 lux atau sekitar 77,08  $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$  (Zhang and Kojima, 1998).

### III.8.4 Proses Mutasi Mikroalga dengan Sinar UV-B



**Gambar III.3** Instalasi Alat Mutasi UV-B

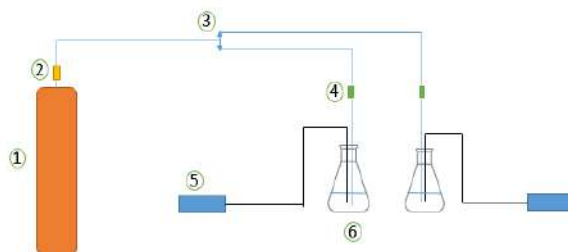
Keterangan :

1. Lampu UV-B
2. *Petridish* berisi mikroalga *B.braunii*

Mengacu pada Zul (2003), mutasi dilakukan dengan lampu UV-B germicidal dengan perlakuan di dalam ruang yang gelapkan. Selama radiasi berlangsung, tutup *petridish* dibuka agar transmisi sinar UV-B tidak terhalang. Sebelum dimutasi

menggunakan UV-B, mikroalga diambil sampel untuk dianalisa jumlah sel awal. Selanjutnya mikroalga diberi paparan sinar UV-B dengan posisi sinar UV-B lurus di atas sel target dengan jarak 3 cm selama 3 menit. Untuk mengetahui jumlah sel yang bertahan hidup dari proses mutasi UV-B, kembali dilakukan analisa *counting chamber*.

### III.8.5 Penambahan CO<sub>2</sub> dan Siklus Pencahayaan



**Gambar III.4** Desain Alat untuk Penambahan CO<sub>2</sub>

Keterangan : 1. Tabung CO<sub>2</sub> 4. Rotameter  
2. Regulator 5. Aerator  
3. Splitter 6. Erlenmeyer

Gas CO<sub>2</sub> ditambahkan pada mikroalga *B. Braunii* termutasi UV-B dengan dialiri udara 2,5 L/menit dan dilakukan analisa *counting chamber* setiap 24 jam. Menurut Tasic (2016), kandungan CO<sub>2</sub> di udara sangat kecil yaitu sekitar 0,03% atau sekitar 300 ppm, sehingga dibutuhkan penambahan kadar CO<sub>2</sub> agar pertumbuhan mikroalga dapat tumbuh optimal. Penambahan konsentrasi CO<sub>2</sub> dilakukan dengan menggunakan selang yang terhubung pada tabung gas CO<sub>2</sub>. Variabel penambahan CO<sub>2</sub> pertama yang dilakukan yaitu sebanyak 50 mL/menit selama 20 hari, lalu dilanjutkan dengan variabel selanjutnya yaitu 0 mL/menit selama 20 hari pula. Pengaturan *rate* CO<sub>2</sub> diatur dengan menggunakan *flowmeter*. Dilakukan pengujian pH menggunakan kertas pH setiap 24 jam.

### III.8.6 Pengukuran Intensitas Cahaya



**Gambar III.5** Alat *Lux Meter*

Pengukuran intensitas cahaya dengan menggunakan *Lux meter*. Prinsip kerja alat ini yaitu menempelkan bagian lampu *detector* pada seperangkat lampu yang akan diukur intensitasnya sesuai dengan kondisi yang digunakan (dalam hal ini jarak yang diambil adalah 3 cm dari lampu). Kemudian tekan tombol power pada posisi angka 1 dan tekan lux serta atur range cahaya yang terdeteksi pada layar *Light meter*. Dengan range A = 0-1999, B = 2000-19990, C = 20000-50000.

### III.8.7 Analisa Salinitas Air Laut



**Gambar III.6** *Hand Refractometer*

Analisa salinitas air laut dapat digunakan dengan alat *hand refractometer*. Prinsip kerja dari alat ini adalah pembiasan cahaya. Pembiasan cahaya adalah pembelokan cahaya melewati bidang batas dua medium yang berbeda indeks biasnya.

Terjadinya pembiasan cahaya karena cahaya menembus media yang lebih rapat.

*Hand refractometer* mempunyai 1 lubang pengamat. Sampel air laut yang diambil berasal dari air laut (Balai Budidaya Air Payau Situbondo, Jawa Timur) dan meletakkannya pada kaca preparat *hand refractometer* kemudian sampel akan terbaca nilai salinitasnya. Nilai salinitas akan ditunjukkan dengan strip angka yang berwarna biru pada *hand refractometer*.

### III.8.8 Analisa Jumlah Sel Mikroorganisme dengan Metode *Counting Chamber*

Sebelum menghitung jumlah sel, diperlukan pengenceran yang bertujuan mempermudah pengamatan dengan metode *counting chamber*. Sebanyak 1 mL sampel mikroalga diambil menggunakan pipet ukur, lalu diencerkan dengan *aquadest* hingga 10 mL.

Langkah selanjutnya adalah meneteskan suspensi sampel secukupnya pada hemasitometer dengan menggunakan pipet tetes lalu ditutup dengan *deck glass*. Jika jumlah sel dalam 1 persegi kecil lebih dari 10 sel dan dalam 1 persegi besar lebih dari 100 sel, maka sampel perlu diencerkan kembali. Setelah itu meletakkan hemasitometer pada meja objek mikroskop. Menentukan penetapan 5 titik dari 16 kotak terkecil pada hemasitometer seperti pada gambar dibawah ini:

A				B
		C		
D				E

**Gambar III.7** Penentuan Titik Hitung pada Hemasitometer

Hasil perhitungan jumlah sel setiap titiknya di rata – rata. Kemudian jumlah sel/mL dihitung menggunakan persamaan:



$$\text{Jumlah sel/ mL} = \frac{\text{Jumlah sel tiap kotak}}{0,04 \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}} \times \frac{1000}{1} \times \text{faktor pengenceran}$$

### III.8.9 Ekstraksi Lipid

Menurut Widjaja (2009), langkah pertama untuk ekstraksi lipid adalah penyingkapan mikroalga. Proses ini diawali dengan menimbang massa botol *centrifuge* yang berisi kultur mikroalga, selanjutnya dilakukan penyingkapan menggunakan *centrifuge* dengan kecepatan 8500 rpm selama 5 menit pada suhu 30 °C (suhu ruang) hingga diperoleh endapan. Setelah diperoleh endapan, *supernatant* hasil *centrifuge* dibuang dan endapan disaring kembali dengan *filter paper*, serta menggunakan alat *vacuum pump*. Sebelum digunakan, *filter paper* ditimbang dahulu untuk mengetahui massa awal *filter paper*. Setelah penyingkapan, massa *filter paper* dan alga basah ditimbang kemudian dilakukan proses pengeringan mikroalga menggunakan oven dengan suhu 60 °C selama 2 jam. Setelah 2 jam massa *filter paper* dan mikroalga kering kembali ditimbang.



**Gambar III.8** Rangkaian Alat Ekstraksi Soxhlet

Sampel selanjutnya ditumbuk dengan mortal dan di ultrasonikasi selama 30 menit dengan suhu 60 °C. Setelah itu sampel kemudian diekstrak dengan menggunakan ekstraksi

*soxhlet* seperti pada **Gambar III.8** dengan menggunakan pelarut n-heksan. Pelarut yang digunakan adalah 150 mL pelarut dalam setiap ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan selama 6 jam hingga warna pelarut menjadi bening.

Campuran n-heksan dan lipid yang terekstrak kemudian dipisahkan dengan cara distilasi seperti pada **Gambar III.9** di bawah ini. Distilasi dilakukan selama 2 jam dengan menggunakan labu distilasi dan kondensor *liebig*. Suhu operasi distilasi dijaga 70 °C.



**Gambar III.9** Rangkaian Alat Distilasi

#### **III.8.10 Analisa GC (*Gas Chromatography*)**

Kandungan trigliserida dan FFA dalam *crude lipid* mikroalga dianalisa menggunakan *Gas Chromatography*. Analisa kuantitatif dilakukan dengan Shimadzu GC-2010 gas chromatography (Kyoto, Japan) yang dilengkapi dengan *flame ionization detector*. Separasi dilakukan dengan DB-5HT (5%-phenyl)-methylpolysiloxane non-polar *column* (15 m x 0,32 mm i.d.; dengan ketebalan film 0,1  $\mu\text{m}$ ). Temperatur injektor dan detector diatur pada suhu 370 °C. Temperatur kolom dimulai pada 80 °C meningkat menuju 305 °C dengan laju 15°C/ menit, kemudian menuju 335 °C dengan laju 5 °C/ menit dan dijaga pada suhu 335 °C selama 5 menit. Selanjutnya, temperatur kolom ditingkatkan menuju 365 °C dengan laju 15 °C/ menit. *Split rasio* 1:50 menggunakan nitrogen sebagai *carrier gas* dengan laju linier

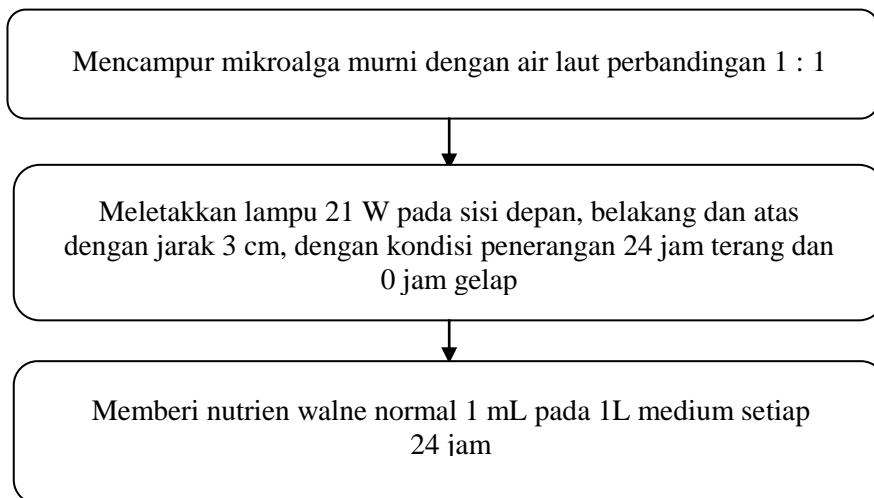
30 cm/ s pada 80 °C. Sampel sebanyak 20 mg dilarutkan dalam 1mL etil asetat, dan 1 µL sampel diambil dan diinjeksikan ke dalam GC.

### **III.8.11 Analisa TLC (*Thin Layer Chromatography*)**

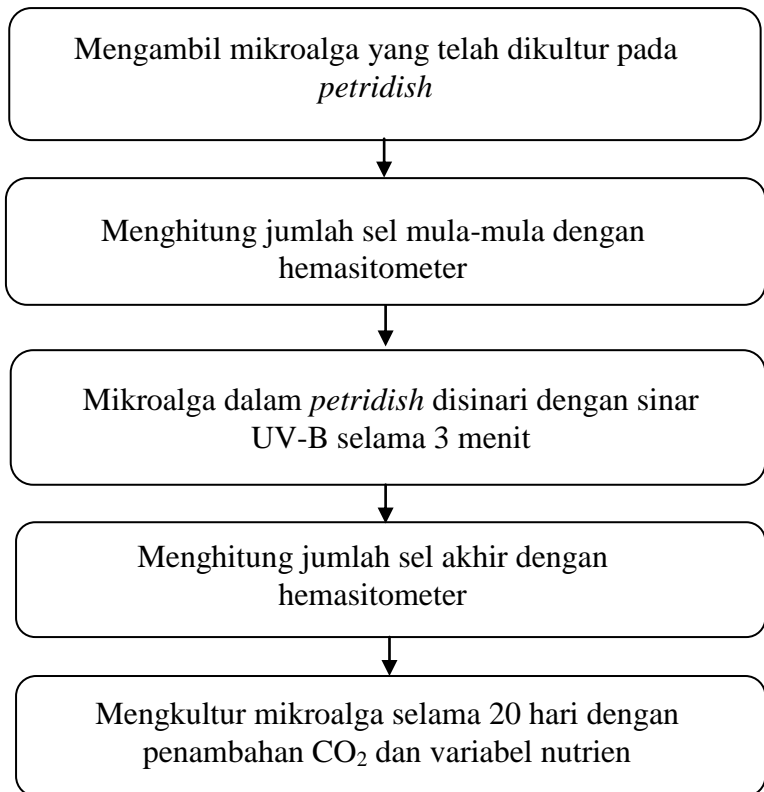
Analisa kualitatif kandungan TG dalam minyak nyamplung digunakan Thin Layer Chromatography (TLC) plate. Kertas TLC mula-mula ditetesi oleh sampel dan direndam dalam mobile phase dengan kadar hexane:etil asetat:asam asetat sebesar 90:10:1. Pada saat perendaman tidak diperkenankan tinggi mobile phase melebihi area yang telah ditentukan pada kertas TLC. Perendaman dengan mobile phase dilakukan dalam botol tertutup rapat dan kertas TLC dikeringkan pada suhu ruang. Pada pembacaan di kertas TLC menggunakan lampu UV, yaitu dengan cara menyinari kertas TLC yang telah direndam dalam mobile phase menggunakan lampu UV gelombang 365 nm.

## **III.9 Diagram Alir Penelitian**

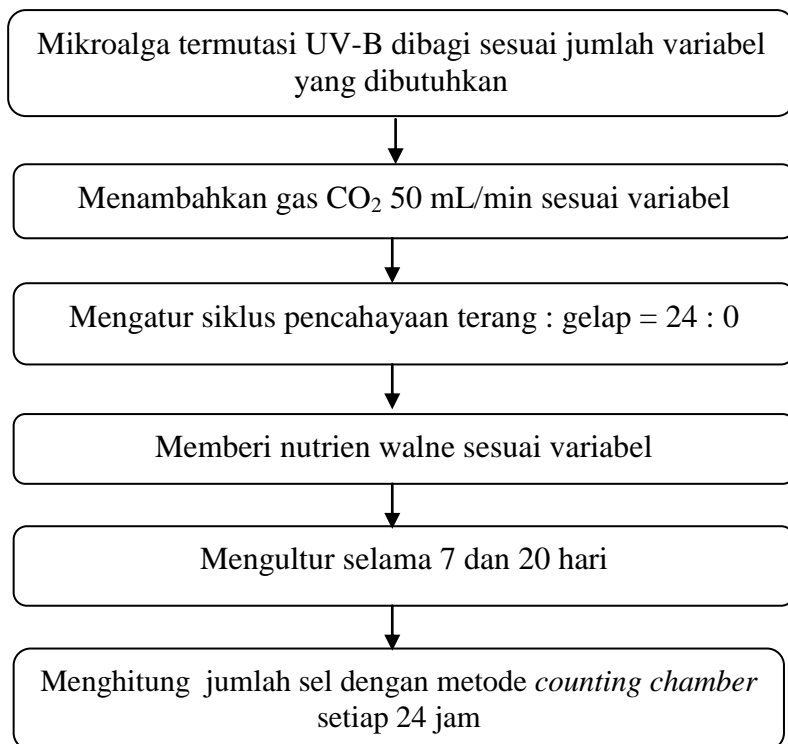
### **III.9.1 Pre-Kultur Mikroalga *Botryococcus braunii***



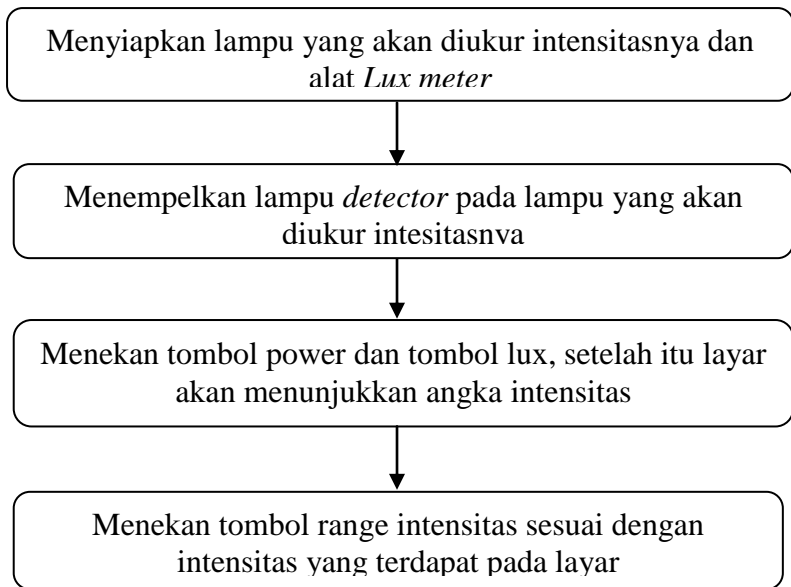
### III.9.2 Mutasi Mikroalga dengan Sinar UV-B



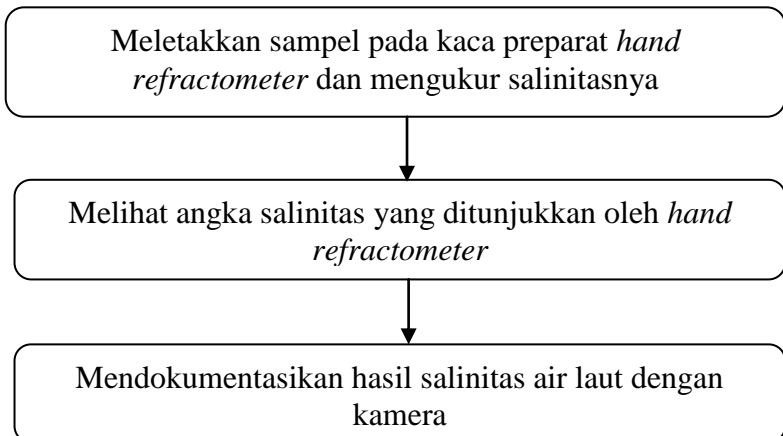
### III.9.3 Penambahan CO<sub>2</sub> dan Variabel Kadar Nitrogen



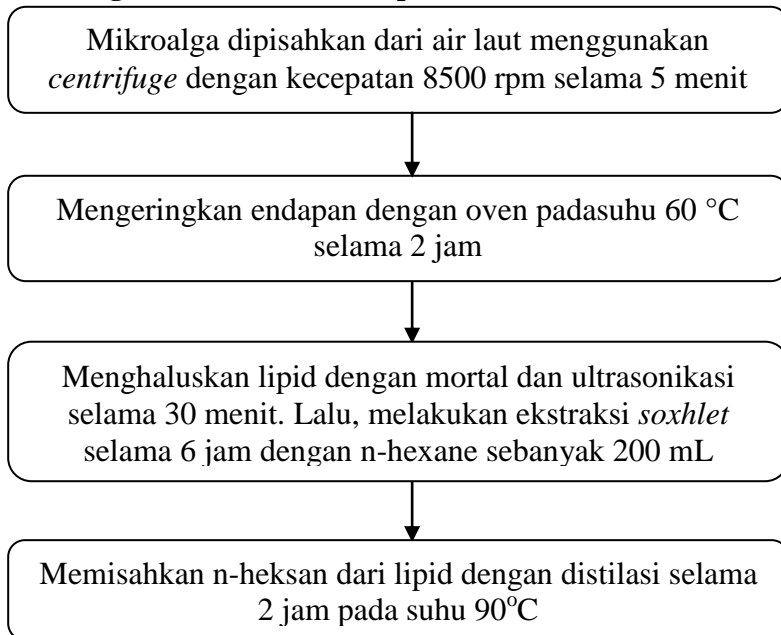
#### III.9.4 Diagram Alir Pengukuran Intensitas Cahaya



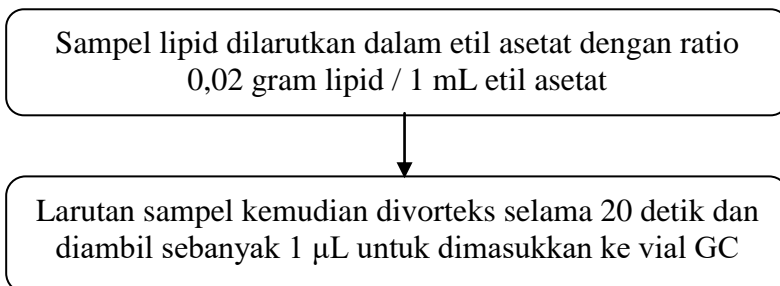
#### III.9.5 Diagram Alir Pengukuran Salinitas



### III.9.6 Diagram Alir Ekstraksi Lipid



### III.9.7 Analisa Gas Chromatography (GC)



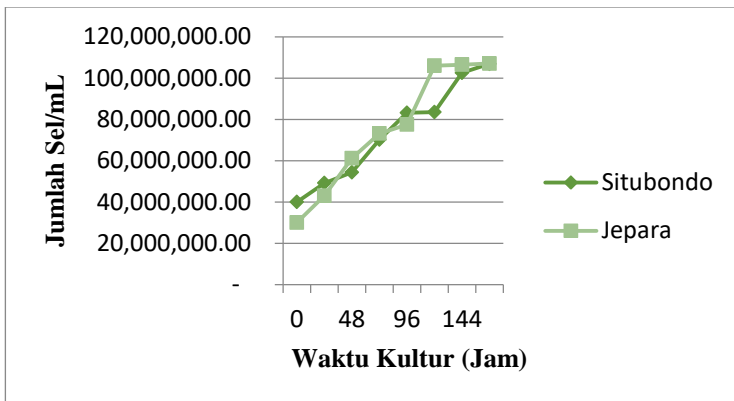
## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### IV.1 Kultur Asal Budidaya

Telah dilakukan kultur *B.Braunii* secara alami selama 7 hari dengan asal budidaya yang berbeda yaitu pada **Tabel IV.1**

**Tabel IV.1** Jumlah Sel *B.Braunii* dengan Asal Budidaya yang Berbeda Selama Kultur 7 Hari

Jam ke	Asal Budidaya	
	Situbondo (Sel/mL)	Jepara (Sel/mL)
0	40,000,000	30,000,000
24	49,166,666	43,000,000
48	54,333,333	61,166,666
72	70,166,666	73,166,666
96	83,166,666	77,500,000
120	83,500,000	106,000,000
144	102,500,000	106,500,000
168	106,833,333	107,000,000



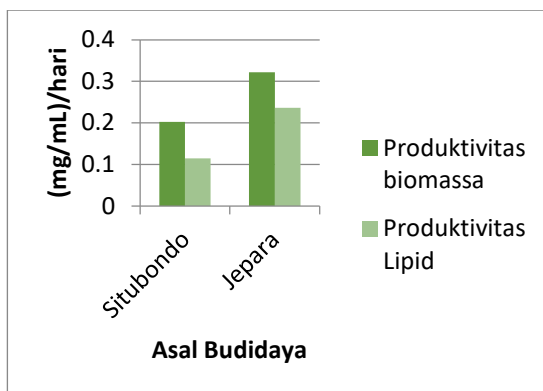
**Gambar IV.1** Pertumbuhan sel *B.Braunii* dengan Asal Budidaya yang Berbeda Selama Kultur 7 Hari



Berdasarkan **Tabel IV.1** diketahui bahwa pertumbuhan mikroalga *B.braunii* setiap harinya meningkat dilihat dari jumlah sel dan pada kurva yang terdapat di **Gambar IV.1**. Pada perhitungan jumlah sel dengan metode *counting chamber*, hanya sel yang hidup yang dihitung jumlahnya. Kultur *B.braunii* alami dengan asal budidaya Situbondo jumlah selnya sebesar 106.833.333 sel/mL, sedangkan dengan asal budidaya Jepara jumlah selnya sebesar 107.000.000 sel/mL pada hari ke-7. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa pertumbuhan *B.braunii* pada kedua variabel meningkat setiap hari. *B.braunii* dengan asal budidaya Jepara mempunyai jumlah sel akhir yang lebih tinggi dibandingkan dengan variabel lainnya.

**Tabel IV.2** Perbandingan Produktivitas Biomassa Dan Lipid Sel *B.braunii* Alami dengan Asal Budidaya yang Berbeda

Parameter	Satuan	Asal Budidaya	
		Situbondo	Jepara
Konsentrasi Biomassa	g/L	2.265	3.129
Produktivitas biomassa per hari	(mg/ml)/hari	0.2024	0.3216
Perhitungan konsentrasi lipid	%	56.6307	73.5698
Perhitungan Produksi Lipid	(g/l)/hari	0.1146	0.2366



**Gambar IV.2** Perbandingan Produktivitas Biomassa Dan Lipid Sel *B.braunii* Alami dengan Asal Budidaya yang Berbeda

Berdasarkan data yang disajikan diatas, terlihat bahwa produktivitas lipid dan biomassa yang paling tinggi dimiliki oleh kultur alami dengan asal budidaya Jepara. Masing-masing sebesar 0.2366 (g/l)/hari untuk produktivitas lipid dan produktivitas biomassa sebesar 3.129 (mg/mL)/hari. Hal ini menunjukkan bahwa mikroalga *B.braunii* dengan asal budidaya Jepara lebih baik dibandingkan dengan asal budidaya Situbondo. Mikroalga *B.braunii* alami dengan asal budidaya Jepara selanjutnya digunakan sebagai bibit untuk tahapan pre-kultur.

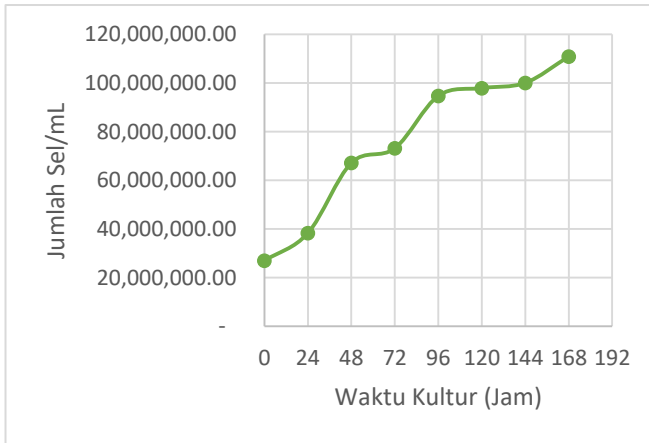
## IV.2 Pre-Kultur *B.braunii* Alami

Telah dilakukan pre-kultur selama 7 hari pada **Tabel IV.3**

**Tabel IV.3** Jumlah Sel *B.Braunii* Selama Pre-Kultur 7 Hari

Jam ke	Jumlah Sel (Sel/mL)
0	27.500.000
24	38.833.333
48	67.166.667
72	73.166.667
96	94.666.667
120	97.833.333

144	100.000.000
168	110.833.333



**Gambar IV.3** Kurva Pertumbuhan *B.braunii* Pre-Kultur 7 Hari

Berdasarkan **Tabel IV.3** diketahui bahwa pertumbuhan sel mikroalga *B.braunii* setiap harinya meningkat dilihat dari jumlah sel seperti yang ditunjukkan pada kurva yang terdapat di **Gambar IV.3**. Perhitungan jumlah sel dilakukan dengan alat yang bernama *counting chamber*, hanya sel yang hidup yang dihitung jumlahnya. Perbedaan sel yang hidup dan mati dapat diketahui pada warna mikroalga. Pada kondisi pertumbuhan optimal mikroalga berwarna hijau sampai dengan hijau tua pekat, sedangkan dalam kondisi pertumbuhan tidak optimal mikroalga berwarna hijau kekuningan, dan pada keadaan mati mikroalga cenderung berwarna kuning sampai dengan bening. Kultur *B.braunii* alami dengan jumlah sel 110.833.333 sel/mL selanjutnya digunakan sebagai bibit untuk mutasi *B.braunii* dengan menggunakan sinar UV-B.

### IV.3 Mutasi *B.braunii* Alami Menggunakan Lampu UV-B

Perlakuan mutasi dilakukan untuk menghasilkan mutasi mikroalga *B.braunii* yang memiliki karakteristik serupa dengan mutasi yang telah dilakukan dalam penelitian sebelumnya oleh Dinar – Regin (2017) agar hasil produktivitas lipid yang diperoleh nantinya dapat dibandingkan. Karakteristik mutasi serupa yang dimaksud dalam hal ini adalah mutasi yang memiliki persentase kematian sel sebesar 27 – 31%. Jumlah sel *B.braunii* awal dengan jumlah sel yang hidup setelah pemaparan sinar UV-B dan persentase kematiannya disajikan dalam **Tabel IV.4**. Hasilnya menunjukkan bahwa terjadi penurunan persentase sel yang hidup setelah pemaparan sinar UV-B sesuai dengan variabelnya yaitu pemaparan selama 3 menit. Sel yang masih hidup setelah pemaparan sinar UV-B disebut sebagai sel yang sudah termutasi.

**Tabel IV.4** Jumlah Sel *B.braunii* Sebelum dan Sesudah Mutasi Menggunakan Sinar UV-B

Pemaparan Sinar UV-B (Menit)	Run	Jumlah Sel <i>B.braunii</i> (sel/mL)		% Kematian Rata-rata
		Sebelum Mutasi	Setelah Mutasi	
3 Menit	Penelitian sebelumnya	49.833.333	39.000.000	29,76
3 Menit	Run 1	110.833.333	75.666.667	29,73
	Run 2	110.833.333	81.166.667	
	Run 3	110.833.333	76.833.333	

Mutasi dilakukan dengan waktu pemaparan selama 3 menit dengan persentase kematian sel rata-rata sebesar 29,73 % dari 3 kali pengulangan. Waktu pemaparan selama 3 menit dipilih berdasarkan kesimpulan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Cecil-Wahyu (2017) dimana waktu pemaparan 3 menit merupakan waktu pemaparan terbaik jika dibandingkan dengan waktu pemaparan 1,5 menit dan 30 menit. Sinar UV-B memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan, kelangsungan hidup, pigmentasi, metabolisme maupun fotosintesis dari mikroalga. Peningkatan radiasi UV-B secara umum akan menurunkan

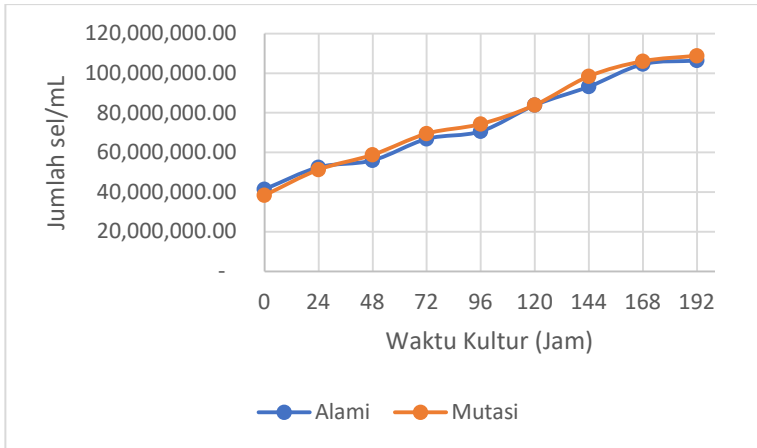
kandungan klorofil dan menurunnya fotosintesis (efek pada fotosistem). Penurunan kandungan klorofil dan fotosintesis ini menghasilkan biomassa yang lebih rendah (Xue et al, 2005).

#### IV.4 Pre-Kultur *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B

*B.braunii* yang telah dimutasi selanjutnya dilakukan kultur atau pengembangbiakkan *B.braunii* alami dan termutasi UV-B selama 7 hari dan dilakukan *counting chamber* setiap hari. Hasil pertumbuhan sel *B.braunii* alami dan termutasi UV-B selama 7 hari disajikan dalam **Tabel IV.5** berikut :

**Tabel IV.5** Jumlah Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Selama 7 Hari Kultur

Hari ke	Jumlah Sel <i>B.braunii</i> (sel/mL)	
	Alami	Mutasi UV-B
0	41,416,666.67	38,416,666.67
1	52,500,000.00	51,333,333.33
2	56,000,000.00	58,833,333.33
3	66,833,333.33	69,500,000.00
4	70,666,666.67	74,333,333.33
5	83,916,666.67	83,916,666.67
6	93,250,000.00	98,416,666.67
7	104,583,333.33	106,000,000.00



**Gambar IV.4** Kurva Pertumbuhan *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Selama 7 Hari

Pada perhitungan jumlah sel dengan metode *counting chamber*, hanya sel yang hidup yang dihitung jumlahnya. Hal ini dapat diketahui pada warna mikroalga. Pada kondisi pertumbuhan optimal, mikroalga berwarna hijau tua pekat sedangkan mikroalga akan berwarna hijau kekuningan bila kondisi pertumbuhannya tidak optimal dan cenderung berwarna kuning bila mati.

Berdasarkan **Tabel IV.5** dan **Gambar IV.4** diatas dapat dilihat bahwa pertumbuhan sel *B.braunii* alami dan mutasi mengalami peningkatan setiap harinya. Pertumbuhan sel *B.braunii* alami pada hari ke 0 dengan jumlah sel sebesar 41.416.667 sel/mL dan pada hari ke 7 naik menjadi 104.583.333 sel/mL. Sedangkan pertumbuhan sel *B.braunii* mutasi UV-B menunjukkan pertumbuhan yang cukup signifikan pada hari ke 0 sebesar 38.416.667 sel/mL dan pada hari ke 7 naik menjadi 106.000.000 sel/mL.

## **IV.5 Pengaruh Kadar Nitrogen Dalam Nutrien dan Penambahan CO<sub>2</sub>**

### **IV.5.1 Pertumbuhan Sel**

#### **IV.5.1.1 Pertumbuhan Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Dengan Pengaruh Nutrien Serta penambahan CO<sub>2</sub> sebesar 50 mL/min dalam Waktu Kultur 7 Hari dan 20 Hari**

Nitrogen merupakan unsur fungsional dan struktural pembentuk protein dalam sel alga dan menyumbang 7-20% berat kering sel. Defisiensi nitrogen dalam kultur alga adalah meningkatkan biosintesis dan akumulasi lipid. Keterbatasan nitrogen dapat dianggap sebagai tekanan lingkungan yang efisien untuk meningkatkan akumulasi lipid. Mikroalga dapat memanfaatkan sumber nitrat, ammonia, atau nitrogen. Secara garis besar nitrogen mempengaruhi pertumbuhan dari sel mikrolaga seperti kandungan lipid dan protein. Pada kondisi dimana kadar nitrogen kecil, maka produksi lipid pada sel akan bertambah banyak, keadaan ini biasa disebut *Nitrogen Starvation*.

Secara Natural setiap tumbuhan membutuhkan CO<sub>2</sub> dalam pertumbuhannya sebagai bahan bakar mereka dalam memproduksi makanan. CO<sub>2</sub> digunakan oleh mikroalga untuk proses fotosintesis seperti tumbuhan berklorofil yang lainnya. Konsentrasi CO<sub>2</sub> di udara hanya sekitar 0,03% dan tidak cukup bagi pertumbuhan mikroalga sehingga diperlukan penambahan CO<sub>2</sub> murni pada proses kultur mikroalga (Yaming Ge dkk, 2011). Untuk itu dalam percobaan ini CO<sub>2</sub> ditambahkan kedalam kultur 500 mL dengan rate sebesar 50 mL/min dengan harapan akan memperbesar jumlah sel mikroalga.

Pada tahap ini mikroalga *B.braunii* alami dan termutasi UV-B dikultur selama 7 hari dan 20 hari, kemudian ditambahkan nutrien dengan kadar nitrogen dalam nutrien yang berbeda yaitu 100 mg/L untuk kadar normal nitrogen dan 0,03 mg/L untuk rendah nitrogen dalam nutrien. Mikroalga *B.braunii* alami dan termutasi UV-B yang dikultur selama 7 hari dan 20 hari kemudian dilakukan perhitungan jumlah selnya setiap hari untuk mengetahui pertumbuhan sel yang ditandai dengan semakin

keruhnya warna media kultur mikroalga. Dalam analisa perhitungan jumlah sel digunakan metode *counting chamber* dengan menggunakan hemasitometer dan mikroskop.

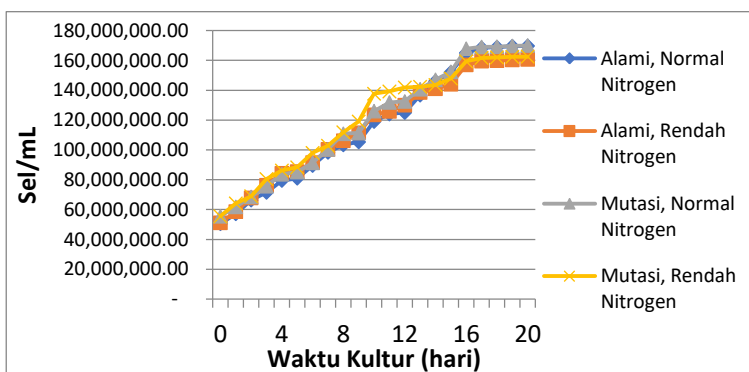
Jumlah sel awal *B.Braunii* alami pada hari ke-0 sebesar 50.500.000 sel/mL. Sedangkan jumlah sel awal kultur yang termutasi UV-B adalah sebesar 55.500.000 sel/mL. Data pertumbuhan sel mikroalga *B.braunii* alami dan mutasi UV-B setelah dikultur selama 7 hari dan 20 hari dengan pemberian normal nutrisi dan pengurangan kadar nitrogen serta dengan penambahan CO<sub>2</sub> disajikan dalam tabel berikut:

**Tabel IV.6** Pertumbuhan Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 Hari dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien Dan Penambahan CO<sub>2</sub> 50 mL/min

Ha ri ke	Jumlah sel/ mL (dalam puluhan juta)			
	Alami		Mutasi	
	Normal Nitrogen (N= 100 mg/L)	Rendah Nitrogen (N= 0.03 mg/L)	Normal Nitrogen (N= 100 mg/L)	Rendah Nitrogen (N= 0.03 mg/L)
0	50,500	51,166	55,500	55,500
1	57,166	58,666	61,833	64,166
2	66,333	67,833	68,500	69,000
3	71,500	76,333	75,666	80,500
4	79,500	84,333	83,666	86,166
5	81,000	85,500	85,166	88,333
6	89,500	91,500	91,333	98,000
7	98,333	100,333	100,333	102,833
8	103,333	106,166	110,833	111,833
9	105,333	111,500	111,333	119,000
10	119,000	123,500	126,000	137,666



11	124,000	125,833	131,833	139,166
12	125,000	130,000	132,500	141,833
13	136,666	138,500	140,666	142,333
14	146,000	141,000	147,000	143,500
15	152,000	144,000	152,333	147,833
16	165,000	157,000	167,833	159,333
17	168,333	159,500	169,000	161,666
18	168,833	159,833,	169,166	162,000
19	169,500	160,333,	169,666	162,333
20	169,666	160,666	170,000	162,500



**Gambar IV.5** Pertumbuhan Sel *B. braunii* Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 Hari dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien Dan Penambahan CO<sub>2</sub> 50 mL/min

Berdasarkan **Tabel IV.6** dan **Gambar IV.5** iatas dapat dilihat bahwa pertumbuhan sel *B. braunii* alami dan mutasi UV-B untuk variabel normal dan rendah nitrogen nutrien serta dengan penambahan gas CO<sub>2</sub> sebanyak 50 mL/min, jumlah naik secara signifikan setiap harinya lalu mengalami fase stagnan mulai dari hari ke 14 sampai dengan hari ke 20. Jumlah sel pada hari ke-7 untuk variabel alami sebesar 100.333.333 sel/mL, sedangkan

jumlah sel untuk variabel mutasi UV-B sebesar 102.833.000 sel/mL. Variabel alami dan mutasi UV-B mencapai jumlah sel tertinggi pada hari ke-20 yaitu masing-masing sebesar 169.666.666 sel/mL untuk variabel alami dan 170.000.000 sel/mL untuk variabel mutasi UV-B.

Sedangkan untuk perbedaan pertumbuhan pada kadar nitrogen di dalam nutrient, dapat dilihat bahwa variabel rendah nitrogen berpengaruh terhadap penurunan jumlah sel. Hal ini sesuai dengan kutipan Chrismada et al (2006) yang menyebutkan bahwa kadar nitrogen yang rendah dalam media kultur dapat menyebabkan penurunan jumlah sel. Kadar nitrogen tersebut terkait dengan hilangnya kemampuan sel untuk membangun struktur fungsional yang terkait dengan unsur hara yang jumlahnya terbatas tersebut. Dapat disimpulkan berdasarkan tabel tersebut pertumbuhan paling baik ditunjukkan oleh kultur mutasi dengan pemberian nutrisi normal dimana pertumbuhan selnya mencapai 170.00.000 sel/ml.

#### **IV.4.1.2 Pertumbuhan Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Dengan Pengaruh Nutrien tanpa penambahan CO<sub>2</sub> murni dalam Waktu Kultur 7 Hari dan 20 Hari**

Untuk mengetahui pengaruh dari penambahan gas CO<sub>2</sub> dalam pertumbuhan mikroalga, selanjutnya dilakukan penelitian dengan cara-cara yang sama dengan yang diatas namun tidak dilakukan penambahan gas CO<sub>2</sub> murni kedalam kultur 500 mL.

Pada tahap ini mikroalga *B.braunii* alami dan termutasi UV-B dikultur selama 7 hari dan 20 hari, kemudian ditambahkan nutrisi dengan kadar nitrogen dalam nutrisi yang berbeda yaitu 100 mg/L untuk kadar normal nitrogen dan 0,03 mg/L untuk rendah nitrogen dalam nutrisi. Mikroalga *B.braunii* alami dan termutasi UV-B yang dikultur selama 7 hari dan 20 hari kemudian dilakukan perhitungan jumlah selnya setiap hari untuk mengetahui pertumbuhan sel yang ditandai dengan semakin keruhnya warna media kultur mikroalga. Dalam analisa

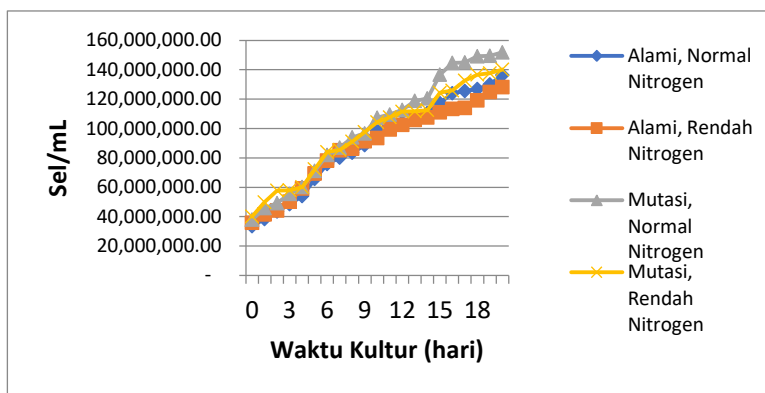
perhitungan jumlah sel digunakan metode *counting chamber* dengan menggunakan hemasitometer dan mikroskop.

Jumlah sel awal *B.Braunii* alami pada hari ke-0 sebesar 33.500.000 sel/mL. Sedangkan jumlah sel awal kultur yang termutasi UV-B adalah sebesar 38.000.000 sel/mL. Data pertumbuhan sel mikroalga *B.braunii* alami dan mutasi UV-B setelah dikultur selama 7 hari dan 20 hari dengan pemberian normal nutrisi dan pengurangan kadar nitrogen serta dengan penambahan CO<sub>2</sub> disajikan dalam tabel berikut:

**Tabel IV.7** Pertumbuhan Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 Hari dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien Tanpa Penambahan CO<sub>2</sub> murni

Har i ke	Jumlah sel/ mL (dalam puluhan juta)			
	Alami		Mutasi	
	Normal Nitrogen (N=100 mg/L)	Rendah Nitrogen (N= 0.03 mg/L)	Normal Nitrogen (N= 100 mg/L)	Rendah Nitrogen (N= 0.03 mg/L)
0	33,500	35,833	38,000	40,166
1	38,333	41,500	45,833	49,166
2	43,500	44,166	49,166	57,833
3	48,500	50,166	55,500	58,500
4	54,000	59,166	60,166	60,166
5	65,666	69,333	71,166	72,166
6	75,833	78,166	82,000	84,000
7	80,166	85,166	87,000	85,500
8	83,500	86,333	94,000	91,000
9	88,666	91,333	96,666	97,666
10	98,666	93,500	107,333	107,666
11	103,666	99,333	109,500	109,500
12	104,000	102,500	112,666	112,666

13	106,333	105,833	118,833	118,833
14	110,500	111,000	120,500	120,500
15	117,333	113,333	136,666	124,333
16	124,000	114,000	144,666	125,833
17	125,500	119,166	149,166	132,666
18	126,833	121,833	149,500	136,666
19	130,000	124,833,	150,000	137,666
20	136,333	128,166	151,833	140,166



**Gambar IV.6** Pertumbuhan Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 Hari dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien tanpa Penambahan CO<sub>2</sub> murni

Berdasarkan **Tabel IV.7** dan **Gambar IV.6** diatas dapat dilihat bahwa secara garis besar pertumbuhan sel *B.braunii* alami dan mutasi UV-B untuk variabel normal nutrien tanpa penambahan CO<sub>2</sub> memiliki trend yang sama dengan penambahan CO<sub>2</sub> yaitu pertumbuhan sel naik secara signifikan setiap harinya lalu mengalami fase stagnan mulai dari hari ke 14 sampai dengan hari ke 20. Jumlah sel pada hari ke-7 untuk variabel alami sebesar

85.166.667 sel/mL, sedangkan jumlah sel untuk variabel mutasi UV-B sebesar 87.000.000 sel/mL. Variabel alami dan mutasi UV-B mencapai jumlah sel tertinggi pada hari ke-20 yaitu masing-masing sebesar 136.333.333 sel/mL untuk variabel alami dan 151.833.333 sel/mL untuk variabel mutasi UV-B.

Dari data diatas dapat disimpulkan bahwa pengaruh penambahan CO<sub>2</sub> cukup berpengaruh terhadap pertumbuhan sel mikroalga meskipun tidak signifikan. Pada variable dengan penambahan CO<sub>2</sub> didapatkan sebesar 169.666.666 sel/mL untuk variabel alami dan 170.000.000 sel/mL untuk variabel mutasi UV-B sedangkan pada tanpa penambahan CO<sub>2</sub> didapatkan masing-masing sebesar 136.333.333 sel/mL untuk variabel alami dan 151.833.333 sel/mL untuk variabel mutasi UV-B. Terlihat selisih yang cukup besar pada variable Alami yaitu sebesar 40.000.000 sel/ml dan sekitar 15.000.000 sel/ml pada kondisi puncak masing-masing. Hal tersebut seperti yang dikatakan oleh Widjaja et al (2009) dan Helmi-Dinny (2016) tentang penambahan gas CO<sub>2</sub> kedalam kultur mengalami kenaikan yang cukup optimal pada penambahan gas CO<sub>2</sub> sebesar 50 mL/min. Adapun dalam penambahan CO<sub>2</sub> dilakukan dipermukaan medium sehingga perlu diteliti lebih lanjut untuk tingkat homogenisasinya.

#### **IV.5.2 Ekstraksi Lipid**

##### **IV.5.2.1 Perbandingan Produktivitas Lipid Dan Lipid Content Pada Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Dengan Pengaruh Nutrien Serta penambahan CO<sub>2</sub> sebesar 50 mL/min dalam Waktu Kultur 7 Hari dan 20 Hari**

Pada tahap ini semua variabel baik variabel kadar nitrogen dalam nutrien maupun waktu kultur dipanen untuk selanjutnya dilakukan ekstraksi dan distilasi dimana nantinya akan diperoleh lipid yang berasal dari mikroalga *B.braunii*. Untuk ekstraksi lipid pada tahap ini digunakan biomassa kering mikroalga alami dan mutasi UV-B semua variabel. Ekstraksi lipid dilakukan selama 6 jam dengan menggunakan pelarut n-heksan dan campuran methanol-heksan (1:2) setelah melalui *pre-*

*treatment*. Proses *pre-treatment* meliputi, masing-masing mikroalga disentrifugasi untuk didapatkan endapan alga basah. Selanjutnya mikroalga basah dikeringkan di dalam oven pada suhu 60 °C selama 2 jam, setelah pengeringan biomassa mikroalga kering di ultrasonikasi lalu ditimbang berat biomassa keringnya. Dari berat kering mikroalga didapatkan konsentrasi biomassa dalam 500 mL volume kultur sehingga massa sel dapat ditentukan.

Berdasarkan data yang didapatkan dari produktivitas biomassa, konsentrasi biomassa, jumlah sel, dan massa sel dapat ditentukan *lipid content* dan produktivitas lipid dari mikroalga. *Lipid content* dapat diperoleh dari berat lipid yang dihasilkan dari proses ekstraksi dan berat mikroalga kering, produktivitas lipid dapat diperoleh dari *lipid content* dalam gram per-liter tiap harinya dan produktivitas biomasanya.

Untuk data *lipid content* dari variable dengan penambahan CO<sub>2</sub> sebesar 50 mL/min disajikan dalam tabel dan gambar dibawah ini :

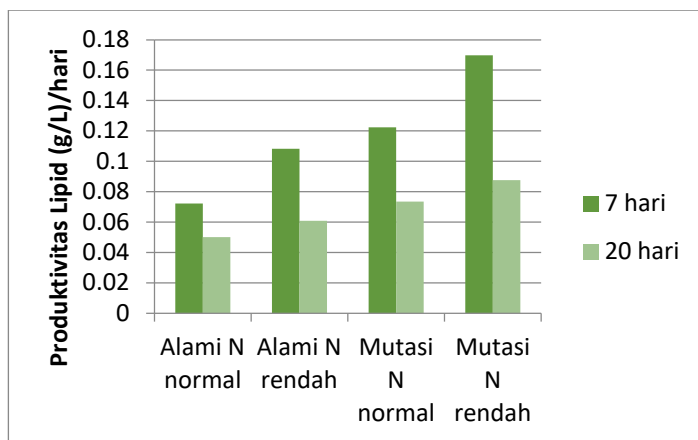
**Tabel IV.8** Perbandingan Produktivitas Biomassa Dan Lipid Content Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien dengan Penambahan CO<sub>2</sub> 50 mL/min

Parameter	Satuan	Alami Nitrogen normal (N= 100 mg/L)	Alami Rendah Nitrogen (N= 0.03 mg/L)	Mutasi Nitrogen normal (N= 100 mg/L)	Mutasi Rendah nitrogen (N= 0.03 mg/L)
Konsentrasi Biomassa	g/L	2.8758	3.096	3.6718	3.9876
Produktivitas biomassa per hari	(mg/ml)/hari	0.2030	0.2070	0.2340	0.2644

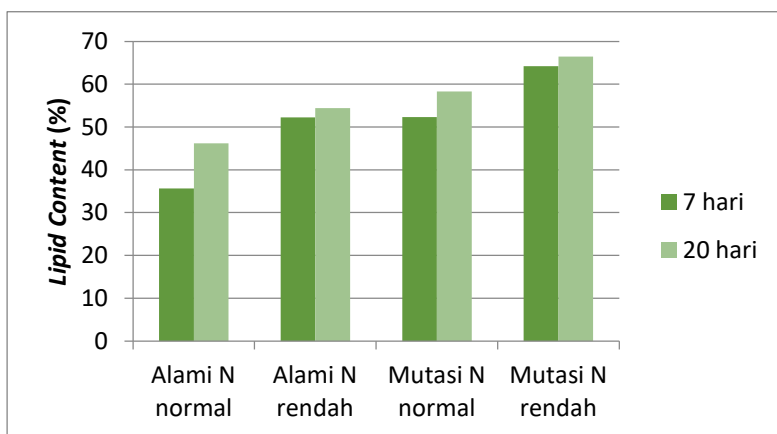
Perhitungan konsentrasi lipid	%	35.6074	52.2609	52.2904	64.1990
Perhitungan Produksi Lipid	(g/l)/hari	0.0722	0.1082	0.1224	0.1697

**Tabel IV.9** Perbandingan Produktivitas Biomassa Dan Lipid Content Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien dengan Penambahan CO<sub>2</sub> 50 mL/min

<b>Parameter</b>	<b>Satuan</b>	<b>Alami Nitrogen normal (N= 100 mg/L)</b>	<b>Alami Rendah Nitrogen (N= 0.03 mg/L)</b>	<b>Mutasi Nitrogen normal (N= 100 mg/L)</b>	<b>Mutasi Rendah nitrogen (N= 0.03 mg/L)</b>
Konsentrasi Biomassa	g/L	3.086	3.276	3.738	4.0022
Produktivitas biomassa per hari	(mg/ml)/hari	0.1083	0.1116	0.1258	0.1317
Perhitungan konsentrasi lipid	%	46.2086	54.3956	58.3199	66.4634
Perhitungan Produksi Lipid	(g/l)/hari	0.05007	0.0607	0.07341	0.08757



**Gambar IV.7** Perbandingan Produktivitas Lipid pada Sel *B. braunii* Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien dengan Penambahan CO<sub>2</sub> 50 mL/min



**Gambar IV.8** Perbandingan Lipid Content pada Sel *B. braunii* Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien dengan Penambahan CO<sub>2</sub> 50 mL/min



Dari data-data diatas dapat dilihat bahwa pada produktivitas lipid, pada kultur yang 7 hari terlihat perbedaan yang cukup signifikan dengan kultur 20 hari. Hal ini dikarenakan pada rumusnya yaitu pembagiannya berdasarkan waktu kulturnya. Sehingga pada waktu kultur 20 hari produktivitas lipid lebih rendah dari waktu kultur 7 hari yang disebabkan oleh faktor pembagiannya yang besar.

Berdasarkan data yang disajikan diatas, terlihat bahwa produktivitas lipid dan lipid content yang paling tinggi dimiliki oleh kultur mutasi dengan kadar nitrogen rendah pada nutriennya. Masing-masing sebesar 0.1697 (g/l)/hari untuk produktivitas lipid dan lipid contentnya sebesar 66%.

Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pengurangan kadar nitrogen dalam nutrisi pada waktu kultur paling optimum dapat meningkatkan kualitas mikroalga *B.braunii* yang dibuktikan dengan hasil produktivitas lipid dan *lipid content* dari *B.braunii* dengan variabel pengurangan kadar nitrogen dalam nutrisi. Seperti yang dikatakan pada Ruangsomboon (2015) untuk memperoleh produktivitas lipid yang tinggi mikroalga perlu dibuat dalam kondisi stress, dalam hal ini dengan pengurangan kadar nitrogen.

Pada percobaan ini kami juga menggunakan percobaan dengan menggunakan pelarut metanol-heksan (1:2) namun hasilnya tidak bagus yang didapat oleh pelarut n-heksane murni. Jadi untuk percobaan yang berikutnya dimana tidak dilakukan penambahan CO<sub>2</sub> pelarut yang digunakan ialah n-heksan murni. Adapun hasil terbaik yang didapat pada pelarut metanol-heksane (1:2) dari Produktivitas Lipidnya sebesar 0.07647 dan Lipid Contentnya sebesar 41.22%.

#### **IV.5.2.2 Perbandingan Produktivitas Lipid Dan Lipid Content Pada Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Dengan Pengaruh Nutrien tanpa penambahan CO<sub>2</sub> dalam Waktu Kultur 7 Hari dan 20 Hari**

Pada tahap ini semua variabel baik variabel kadar nitrogen dalam nutrien maupun waktu kultur dipanen untuk selanjutnya dilakukan ekstraksi dan distilasi dimana nantinya akan diperoleh lipid yang berasal dari mikroalga *B.braunii*. Untuk ekstraksi lipid pada tahap ini digunakan biomassa kering mikroalga alami dan mutasi UV-B semua variabel. Ekstraksi lipid dilakukan selama 6 jam dengan menggunakan pelarut n-heksan setelah melalui *pre-treatment*. Proses *pre-treatment* meliputi, masing-masing mikroalga disentrifugasi untuk didapatkan endapan alga basah. Selanjutnya mikroalga basah dikeringkan di dalam oven pada suhu 60 °C selama 2 jam, setelah pengeringan biomassa mikroalga kering di ultrasonikasi lalu ditimbang berat biomassa keringnya. Dari berat kering mikroalga didapatkan konsentrasi biomassa dalam 500 mL volume kultur sehingga massa sel dapat ditentukan.

Berdasarkan data yang didapatkan dari produktivitas biomassa, konsentrasi biomassa, jumlah sel, dan massa sel dapat ditentukan *lipid content* dan produktivitas lipid dari mikroalga. *Lipid content* dapat diperoleh dari berat lipid yang dihasilkan dari proses ekstraksi dan berat mikroalga kering, produktivitas lipid dapat diperoleh dari *lipid content* dalam gram per-liter tiap harinya dan produktivitas biomasanya.

Untuk data *lipid content* dari variable tanpa penambahan CO<sub>2</sub> murni disajikan dalam tabel dan gambar dibawah ini :

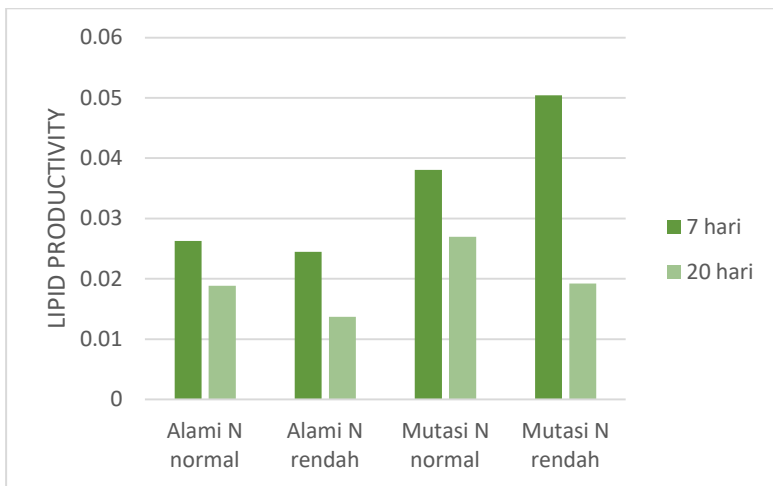
**Tabel IV.10** Perbandingan Produktivitas Biomassa Dan Lipid Content Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien tanpa Penambahan CO<sub>2</sub> murni

<b>Parameter</b>	<b>Satuan</b>	<b>Alami Nitrogen normal (N= 100 mg/L)</b>	<b>Alami Rendah Nitrogen (N= 0.03 mg/L)</b>	<b>Mutasi Nitrogen normal (N= 100 mg/L)</b>	<b>Mutasi Rendah nitrogen (N= 0.03 mg/L)</b>
Konsentrasi Biomassa	g/L	1.336	0.896	1.896	1.696
Produktivitas biomassa per hari	(mg/ml)/hari	0.10974	0.073069	0.15035	0.12959
Perhitungan konsentrasi lipid	%	23.95209	33.48214	25.31645	38.91509
Perhitungan Produksi Lipid	(g/l)/hari	0.0262	0.024	0.0380	0.0504

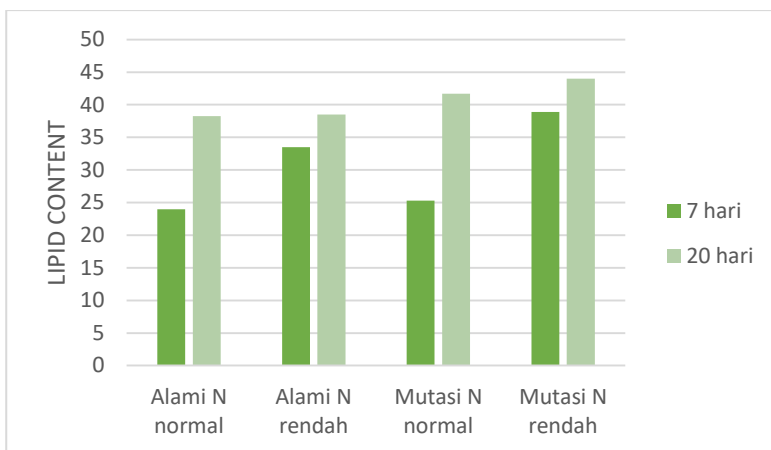
**Tabel IV.11** Perbandingan Produktivitas Biomassa Dan Lipid Content Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien tanpa Penambahan CO<sub>2</sub> murni

<b>Parameter</b>	<b>Satuan</b>	<b>Alami Nitrogen normal (N= 100 mg/L)</b>	<b>Alami Rendah Nitrogen (N= 0.03 mg/L)</b>	<b>Mutasi Nitrogen normal (N= 100 mg/L)</b>	<b>Mutasi Rendah nitrogen (N= 0.03 mg/L)</b>
Konsentrasi Biomassa	g/L	1.3076	0.9876	1.7276	1.2276
Produktivitas biomassa per hari	(mg/ml)/hari	0.049314	0.0355	0.06476	0.04379

Perhitungan konsentrasi lipid	%	38.2379	38.4771	41.6763	43.9882
Perhitungan Produksi Lipid	(g/l)/hari	0.0188	0.0136	0.0269	0.0192



**Gambar IV.9** Perbandingan Produktivitas Lipid pada Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien Tanpa Penambahan CO<sub>2</sub> murni



**Gambar IV.10** Perbandingan Lipid Content pada Sel *B.braunii* Alami dan Termutasi UV-B Variabel Waktu Kultur 7 dan 20 Hari Dengan Normal Nitrogen dan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien tanpa Penambahan CO<sub>2</sub> murni

Dari data-data diatas dapat dilihat bahwa pada produktivitas lipid, pada kultur yang 7 hari terlihat perbedaan yang cukup signifikan dengan kultur 20 hari. Hal ini dikarenakan pada faktor perhitungan yaitu pembagiannya berdasarkan waktu kulturnya. Sehingga pada waktu kultur 20 hari produktivitas lipid lebih rendah dari waktu kultur 7 hari yang disebabkan oleh faktor pembagiannya yang besar.

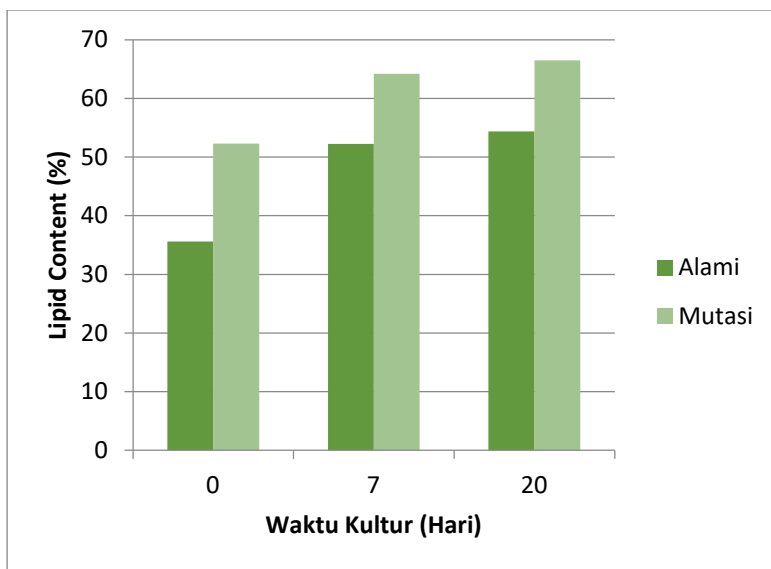
Berdasarkan data yang disajikan diatas, terlihat bahwa produktivitas dan lipid content yang paling tinggi dimiliki oleh kultur mutasi dengan kadar nitrogren rendah pada nutriennya yaitu sebesar 0.05 (g/l)/hari untuk produktivitas lipid dan untuk lipid contentnya sebesar 43,98%.

Dari data yang disajikan, dapat dilihat bahwa dengan penambahan CO<sub>2</sub> sebesar 50 mL/menit menghasilkan produktivitas lipid dan konsentrasi biomass yang lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan CO<sub>2</sub> murni. Hasil tersebut sesuai

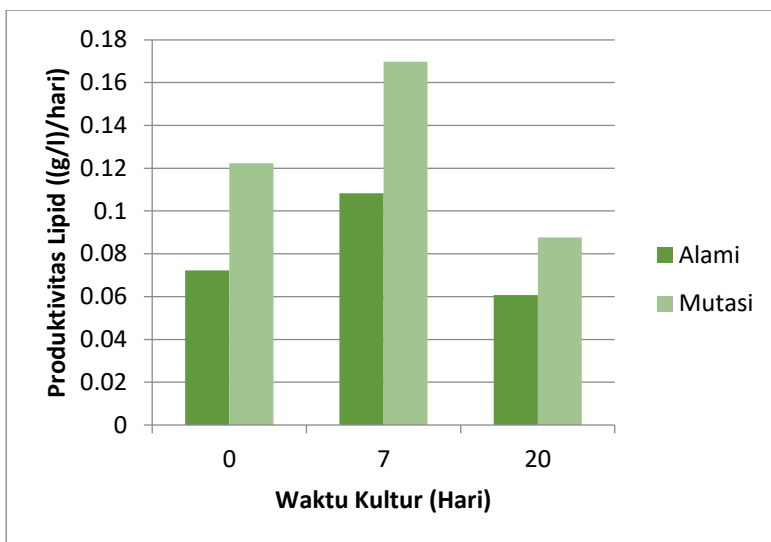
dengan penelitian dari Ranga Rao dkk (2007) dimana penambahan konsentrasi CO<sub>2</sub> sekitar 2% mampu meningkatkan biomass dari 0,5 menjadi 1,58 g/L dalam 25 hari dan pada penelitian oleh Chiu (2008) pada mikroalga lain, penambahan konsentrasi CO<sub>2</sub> sebesar 2% mampu meningkatkan produktivitas lipid dari 0,084 gL<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup> menjadi 0,142 gL<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>.

#### IV.6 Pengaruh Kadar Nitrogen Rendah dan Waktu Kultur

Berikut ini adalah perbandingan *Lipid Content* dan produktivitas lipid pada waktu kultur 7 dan 20 hari dengan rendah nitrogen dalam nutrien dengan penambahan CO<sub>2</sub> 50mL/min.



**Gambar IV.11** Perbandingan Lipid Content pada Variabel Waktu Kultur 7 dan 20 Hari Dengan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien dengan Penambahan CO<sub>2</sub> 50mL/min



**Gambar IV.12** Perbandingan Produktivitas Lipid pada Variabel Waktu Kultur 7 dan 20 Hari Dengan Rendah Nitrogen Dalam Nutrien dengan Penambahan CO<sub>2</sub> 50mL/min

Pada **Gambar IV.11** dapat dilihat bahwa *lipid content* pada waktu kultur 20 hari lebih tinggi dibandingkan dengan waktu kultur 7 hari. Dimana, *lipid content* yang paling tinggi pada waktu kultur 20 hari dengan mikroalga *B.braunii* yang termutasi UV-B sebesar 66%. Hal ini menunjukkan bahwa waktu inkubasi yang lebih lama menyebabkan kurangnya konsentrasi nitrogen pada media kultur yang lebih banyak sehingga dapat meningkatkan *lipid content*. Hal tersebut seperti yang dikatakan oleh Widjaja et al (2009) dan Generis dan Resti (2017) tentang pengaruh pengurangan kadar nitrogen dan waktu kultur.

Sedangkan pada **Gambar IV.12** dapat dilihat antara waktu inkubasi 7 hari dan 20 hari terjadi penurunan yang signifikan. Hal ini dikarenakan pada rumusnya yaitu pembagiannya berdasarkan waktu kulturnya. Sehingga pada waktu kultur 20 hari produktivitas lipid lebih rendah dari waktu kultur 7 hari yang disebabkan oleh faktor pembagiannya yang besar. Hal tersebut

seperti yang dikatakan Generis dan Resti (2017) bahwa pada kondisi pertumbuhan normal, mikroalga yang memproduksi biomassa dalam jumlah besar belum tentu memiliki produktivitas yang optimal.

#### **IV.7 Analisa PH**

pH memiliki pengaruh pada pertumbuhan mikroalga. Tiap – tiap spesies mikroalga memiliki nilai toleran atau nilai minimum pH yang memungkinkan untuk kelangsungan hidupnya. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Czeslawa (1996), menyimpulkan mikroalga tidak dapat tumbuh optimal pada pH di bawah 4,8 sebab, dinding sel mikroalga sudah tidak mampu lagi mempertahankan dirinya untuk bertahan hidup.

Dinding sel mikroalga berfungsi sebagai lapisan buffer atau lapisan untuk menjaga pH dalam tubuh mikroalga. Pada pH asam ( $\text{pH} < 7$ ), mikroalga akan mengkonsumsi karbon dari  $\text{HCO}_3^-$  ( $\text{CO}_2$  yang terlarut di dalam air) untuk membentuk lapisan buffer yang berfungsi melindungi dirinya dari kondisi lingkungannya sehingga mengakibatkan menurunnya kadar  $\text{CO}_2$  terlarut dalam air sehingga pH media berangsur – angsur naik.

Pada pH yang terlampau tinggi, mikroalga akan mengkonsumsi  $\text{CO}_2$  langsung dari udara. Dalam hal ini  $\text{CO}_2$  sangat mudah larut dalam air, akibatnya kadar  $\text{CO}_2$  terlarut meningkat dan membentuk  $\text{H}_2\text{CO}_3$  yang bersifat asam sehingga pH media berangsur – angsur turun (Czeslawa Nalewajko, 1996).

Dalam penelitian ini pH kultur diukur setiap harinya menggunakan kertas pH. Perubahan pH untuk semua variabel disajikan dalam **Tabel IV.12** dan **Tabel IV.13**



**Tabel IV.12** Perubahan pH pada Variabel dengan  
Penambahan CO<sub>2</sub> 50mL/menit

Hari Ke	pH Kultur			
	Alami		Mutasi	
	Normal Nitrogen	Rendah Nitrogen	Normal Nitrogen	Rendah Nitrogen
0	8,5	8,5	8,5	8,5
1	8,5	8,5	8,5	8,5
2	8,5	8,5	8,5	8,5
3	8,0	8,5	8,0	8,0
4	8,0	8,0	8,0	8,0
5	8,0	8,0	8,0	8,0
6	8,0	8,0	8,0	8,0
7	8,0	8,0	8,0	8,0
8	8,0	8,0	8,0	8,0
9	8,0	8,0	8,0	8,0
10	8,0	8,0	8,0	8,0
11	8,0	8,0	8,0	8,0
12	8,0	8,0	8,0	8,0
13	7,5	7,5	7,5	8,0
14	7,5	7,5	7,5	7,5
15	7,5	7,5	7,5	7,5
16	7,5	7,5	7,5	7,5
17	7,5	7,5	7,5	7,5
18	7,5	7,5	7,0	7,0
19	7,0	7,0	7,0	7,0
20	7,0	7,0	7,0	7,0

**Tabel IV.13** Perubahan pH pada Variabel dengan tanpa Penambahan CO<sub>2</sub> murni

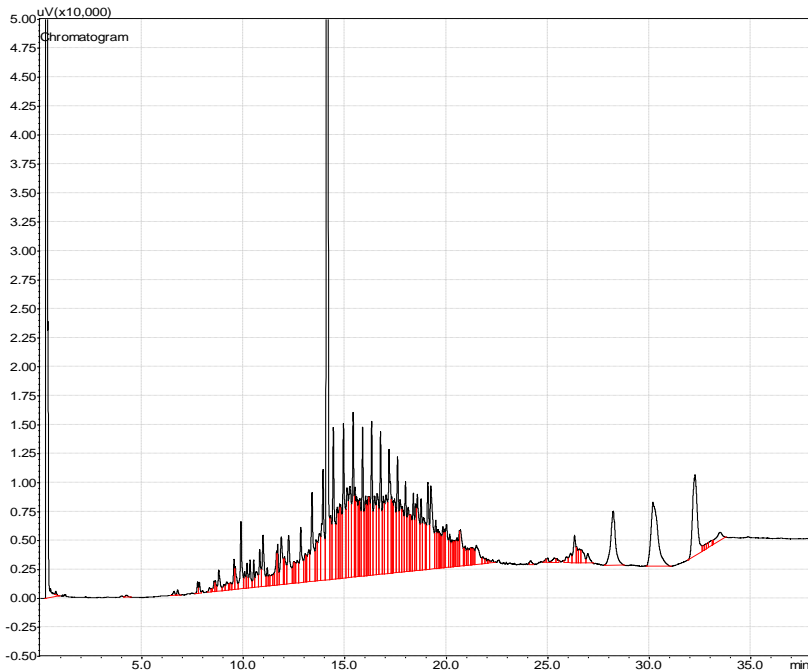
Hari Ke	pH Kultur			
	Alami		Mutasi	
	Normal Nitrogen	Rendah Nitrogen	Normal Nitrogen	Rendah Nitrogen
0	8,5	8,5	8,5	8,5
1	8,5	8,5	8,5	8,5
2	8,5	8,5	8,5	8,5
3	8,0	8,0	8,0	8,5
4	8,0	8,0	8,0	8,0
5	8,0	8,0	8,0	8,0
6	8,0	8,0	8,0	8,0
7	8,0	8,0	8,0	8,0
8	8,0	8,0	8,0	8,0
9	8,0	8,0	8,0	8,0
10	8,0	8,0	7,5	8,0
11	8,0	8,0	7,5	7,5
12	7,5	7,5	7,5	7,5
13	7,5	7,5	7,5	7,5
14	7,5	7,5	7,5	7,5
15	7,5	7,0	7,5	7,5
16	7,5	7,0	7,5	7,5
17	7,0	7,0	7,0	7,5
18	7,0	7,0	7,0	7,0
19	7,0	7,0	7,0	7,0
20	7,0	7,0	7,0	7,0

Berdasarkan **Tabel IV.12** dan **Tabel IV.13** terlihat bahwa pH kultur turun untuk semua variabel. Penurunan pH untuk semua variabel mengalami kecenderungan yang sama yaitu dari pH 8,5 pada hari ke-0 menjadi pH 7,0 pada hari ke 20. Meskipun pH kultur berubah antara 6 – 8, *B.braunii* tetap tumbuh dengan baik tanpa adanya hambatan tertentu. Seperti yang telah

dilaporkan oleh Dayananda et al (2007) bahwa pH kultur tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap *yield* biomassa dan produksi hidrokarbon dari *B.braunii* saat rentang pH 6 – 8,5.

#### IV.8 Analisa GC (*Gas Chromatography*)

Analisa GC digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa dari lipid *B.braunii* alami dan mutasi UV-B. Hasil analisa pada *B.braunii* alami dan mutasi UV-B dengan masing-masing nutrient dan waktu kultur dapat dilihat di tabel yang ada dibawah ini. Untuk contoh perhitungan lipid content dapat dilihat dari gambar dan tabel dibawah berikut



**Gambar IV.13** Hasil Analisa GC Lipid *B.braunii* Alami dengan Variabel Rendah Nitrogen Waktu Kultur 20 Hari

Hasil analisa GC menunjukkan adanya beberapa senyawa yang terkandung dalam lipid *B.braunii* alami seperti yang terdapat pada **Tabel IV.14** berikut.

**Tabel IV.14** Komposisi Senyawa Lipid *B.braunii* Alami dengan Variabel Rendah Nitrogen Waktu Kultur 20 Hari

No	Nama Komponen	Range Retention Time	% Area
1.	Asam lemak bebas (FFA)	11,009 – 14,126	51.1559 %
2.	Monoacylglycerol (MAG)	14,341 – 15,735	10.378 %
3.	Diacylglycerol (DAG)	20,059 – 21,864	3.5726 %
4.	Triacylglycerol (TAG)	26,756 – 35,687	6.9348 %

Untuk perhitungan lebih lengkapnya dapat dilihat dari data dibawah ini :

**Tabel IV.15** Komposisi Senyawa Lipid *B.braunii* Alami Dengan Variabel Penambahan CO<sub>2</sub> Murni 50 ml/min Dengan Pelarut n-heksane

No	Kultur Mikroalgae	FFA	MAG	DAG	TAG
		(%)			
1	Alami normal 7 hari	37.0855	34.6314	1.549	2.3284
2	Alami Rendah 7 hari	18.7811	33.5846	2.293	3.1293
3	Mutasi Normal 7 hari	19.0339	24.8301	2.4037	3.4454
4	Mutasi Rendah 7 hari	34.762	44.2513	1.6039	1.1658
5	Alami Normal 20 hari	14.1102	15.8363	4.6152	48.2609
6	Alami Rendah 20 hari	17.6876	39.7264	1.384	2.0022
7	Mutasi Normal 20 hari	14.9043	31.8794	3.376	7.9664
8	Mutasi Rendah 20 hari	16.8245	33.5682	2.7743	1.6721

**Tabel IV.16** Komposisi Senyawa Lipid *B.braunii* Alami Dengan Variabel Penambahan CO<sub>2</sub> murni 50 ml/min dengan pelarut n-heksan dan metanol (2:1) Stage 1

No	Kultur Mikroalgae	FFA	MAG	DAG	TAG
		(%)			
1	Alami normal 7 hari	21.7441	29.95	2.7015	7.7929
2	Alami Rendah 7 hari	29.4928	35.3353	0.3327	1.8609
3	Mutasi Normal 7 hari	90.7737	2.3515	0.6031	1.4848
4	Mutasi Rendah 7 hari	18.8753	17.326	5.2156	20.3258
5	Alami Normal 20 hari	27.0688	28.5433	2.1734	5.1788
6	Alami Rendah 20 hari	88.0338	2.0201	0.9464	2.0359
7	Mutasi Normal 20 hari	25.596	26.6365	2.1114	3.216
8	Mutasi Rendah 20 hari	21.1869	14.4376	4.2757	17.1144

**Tabel IV.17** Komposisi Senyawa Lipid *B.braunii* Alami Dengan Variabel Penambahan CO<sub>2</sub> murni 50 ml/min dengan pelarut n-heksan dan metanol (2:1) Stage 2

No	Kultur Mikroalgae	FFA	MAG	DAG	TAG
		(%)			
1	Alami normal 7 hari	15.2347	20.9549	6.9758	7.7044
2	Alami Rendah 7 hari	17.651	25.6628	5.1838	5.5859
3	Mutasi Normal 7 hari	29.1443	33.2348	2.5457	5.6403
4	Mutasi Rendah 7 hari	9.8972	15.5775	7.6545	38.0291
5	Alami Normal 20 hari	13.4471	20.9549	6.9758	7.7044
6	Alami Rendah 20 hari	51.1559	10.378	3.5726	6.9348
7	Mutasi Normal 20 hari	13.7324	20.8899	5.8746	12.5858
8	Mutasi Rendah 20 hari	15.1818	18.4121	5.9657	8.7527

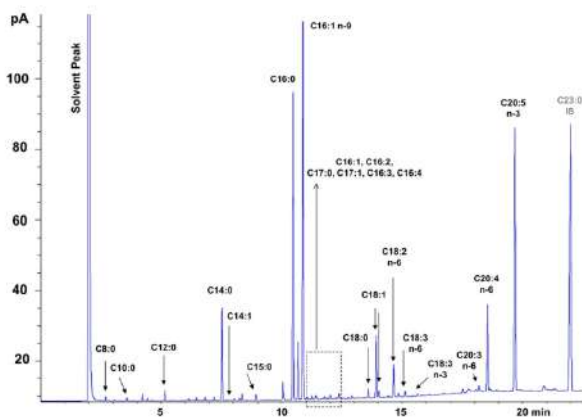
**Tabel IV.18** Komposisi Senyawa Lipid *B.braunii* Alami Tanpa Penambahan CO<sub>2</sub> Murni dengan pelarut n-heksan

No	Kultur Mikroalga	FFA	MAG	DAG	TAG
		(%)			
1	Alami normal 7 hari	19.9558	26.8514	4.3163	2.5193
2	Alami Rendah 7 hari	22.4613	37.6688	2.2811	0.8155
3	Mutasi Normal 7 hari	32.268	27.7981	2.218	1.0345
4	Mutasi Rendah 7 hari	24.4404	34.4395	1.8206	0.1709
5	Alami Normal 20 hari	32.8486	28.4128	1.6363	0.3958
6	Alami Rendah 20 hari	22.915	34.1786	1.523	0.6159
7	Mutasi Normal 20 hari	22.2515	31.771	2.0862	0.3132
8	Mutasi Rendah 20 hari	22.2515	33.3606	2.0862	0.3684

Dari hasil-hasil analisa GC di atas, dapat dilihat pada gambar hasil analisa GC menunjukkan *retention time* pada sumbu x dan intensitas sinyal pada sumbu y. Kandungan TAG yang terbesar diantara keempat hasil analisa tersebut adalah *B.braunii* alami UV-B dengan variabel normal nitrogen dalam nutrien waktu kultur 20 hari.

Dari hasil analisa GC yang didapat untuk setiap variabel didapatkan hasil yang kurang konsisten. Hal ini dapat dilihat dari kadungan lipid yang berbeda pada setiap variabelnya. Hal ini disebabkan oleh proses separasi yang masih perlu dipelajari lebih lanjut. Hal pertama yang dicoba ialah melakukan pemurnian TAG dengan bantuan pelarut yang berbeda, yaitu n-heksane dan metanol (2:1) seperti yang terlihat didalam tabel IV.16 dan tabel IV.17. Terdapat kemajuan pada beberapa variabel yaitu peak-peak yang terbaca di *Gas Chromatography* mulai terpisah. Juga terlihat kenaikan persen TAG yang didapat, Namun, hal tersebut belum memberikan hasil yang lebih konsisten dibandingkan hasil yang didapat apabila menggunakan pelarut n-heksane murni saja sehingga pada percobaan kultur tanpa penambahan CO<sub>2</sub> murni pelarut yang digunakan ialah n-heksane saja.

Untuk hasil yang terdapat pada tabel IV.18 didapat hasil rata-rata TAG yang paling rendah dibanding variabel dengan penambahan CO<sub>2</sub> murni. Menurut Pacheco dkk (2014) kandungan TAG pada *soybean oil* sebesar 79%, DAG sebesar 3,1%, MAG sebesar 9,7%, dan FFA sebesar 8,2%, adapula menurut Dhara dkk (2011), kandungan TAG pada *mustard oil* lebih besar daripada kandungan lainnya yaitu sebesar 95,37%, DAG sebesar 1,18%, MAG sebesar 1,02% dan FFA sebesar 0,33%. Adapun penelitian yang telah dilakukan oleh Pieber S. dkk (2012) dengan mikroalga *Nannochloropsis oculata* dengan GC-FID (HP-INNOWax PEG column, 30 m 250 mm 0.25 mm), menghasilkan data seperti dibawah ini yang menunjukkan kadar TAG yang paling besar terlihat dari rantai C16-20 merupakan *peak* yang paling besar.



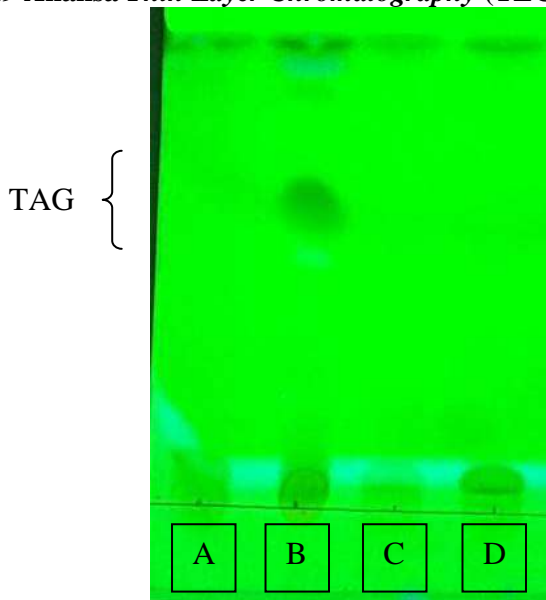
**Gambar IV.14** Hasil analisa GC menurut penelitian Pieber S. dkk (2012)

Dikarenakan inkonsistensi dari data yang didapat dan tidak sesuai dengan penelitian yang sudah ada, perlunya dilakukan penelitian lanjutan mengenai metode ekstraksi yang berbeda supaya didapat hasil analisa yang lebih akurat.

Hasil analisa GC untuk *B.braunii* alami maupun *B.braunii* mutasi UV-B menunjukkan bahwa sebagian besar kandungan asam lemak bebas (FFA) yang lebih besar dibanding

kandungan TAG. Jenis FFA yang terdapat pada *B.braunii* didominasi oleh asam oleat (C18) dan asam palmitat (C16). Dalam proses pembuatan biodiesel, komponen lipid yang diperlukan sebagai bahan baku adalah TAG. TAG merupakan substansi yang bersifat *non soluble* dalam air, terbuat dari satu mol gliserol dan tiga mol asam lemak. TAG sering disebut sebagai lipid itu sendiri karena jumlahnya yang sangat dominan dalam total lipid. Akan tetapi pada penelitian ini mikroalga *B.braunii* lebih banyak menghasilkan FFA daripada TAG. Dengan banyaknya komponen FFA, lebih sulit untuk digunakan sebagai bahan baku biodiesel. Akan tetapi ada beberapa proses yang dapat digunakan diantaranya proses esterifikasi menggunakan katalis asam membentuk gliserol dan transesterifikasi menggunakan katalis basa membentuk metil ester (Ashokkumar, 2014).

#### IV.9 Analisa *Thin Layer Chromatography* (TLC)



**Gambar IV.15** Hasil analisa *Thin Layer Chromatography*



Telah dilakukan analisa *Thin Layer Chromatography* dalam sampel lipid dari mikroalga *Botryococcus braunii*. Analisa ini dilakukan untuk mengetahui kandungan TG secara kualitatif dengan menggunakan fase gerak heksana, etil asetat, dan asam asetat dengan perbandingan volume 90:10:1. Pada pembacaan di kertas TLC menggunakan lampu UV dengan gelombang 365 nm.

Dapat dilihat pada **Gambar IV.15** titik A merupakan variabel dari *B.braunii* alami dengan normal nitrogen pada waktu kultur 20 hari, pada titik B merupakan variabel dari *B.braunii* alami dengan rendah nitrogen pada waktu kultur 20 hari, pada titik C merupakan variabel dari *B.braunii* termutasi dengan normal nitrogen pada waktu kultur 20 hari, pada titik D merupakan variabel dari *B.braunii* termutasi dengan rendah nitrogen pada waktu kultur 20 hari. Pada titik B terjadi pergerakan ke atas sehingga menunjukkan adanya kandungan TAG secara kualitatif dari mikroalga *Botryococcus braunii*.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **V.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian dan analisa yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan :

1. Pertumbuhan dan kadar lipid mikroalga *B.braunii* alami dengan asal budidaya Jepara lebih tinggi dibandingkan dengan asal budidaya Situbondo.
2. Kadar nitrogen dalam nutrien sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kadar lipid mikrolaga *B.braunii*.
3. Pertumbuhan *B.braunii* yang berbeda terhadap setiap variabel penambahan CO<sub>2</sub> menunjukkan bahwa *B.braunii* membutuhkan kadar kebutuhan CO<sub>2</sub> tertentu agar pertumbuhannya dapat mencapai tahap optimal. CO<sub>2</sub> 50 mL/menit merupakan penambahan kadar CO<sub>2</sub> yang terbaik untuk mendapatkan pertumbuhan mikroalga yang optimal pada volume kultur sebesar 500 mL.
4. Pertumbuhan mikroalga paling tinggi dihasilkan oleh mikroalga *Botryococcus braunii* termutasi UV-B dengan nitrogen normal dalam nutrien pada waktu inkubasi 20 hari, penambahan CO<sub>2</sub> 50 mL/menit pada volume kultur 500 mL sebesar 170 juta sel/mL.
5. Produktivitas biomassa tertinggi dihasilkan *B.braunii* dengan rendah nutrien waktu kultur 7 hari, penambahan CO<sub>2</sub> 50 mL/menit pada volume kultur 500 mL yaitu sebesar 0,2644 (mg/mL)/hari.
6. Produktivitas lipid paling tinggi dihasilkan oleh *B.braunii* mutasi UV-B dengan pengurangan kadar nitrogen dalam nutrien waktu kultur 7 hari, penambahan CO<sub>2</sub> 50 mL/menit pada volume kultur 500 mL yaitu sebesar 0,1697 (mg/mL)/hari.
7. *Lipid content* paling besar yaitu *B.braunii* mutasi UV-B dengan pengurangan kadar nitrogen dalam nutrien waktu

kultur 20 hari, penambahan CO<sub>2</sub> 50 mL/menit pada volume kultur 500 mL sebesar 66%.

8. Hasil analisa *Gas Chromatography* perlu dilakukan analisa lebih lanjut untuk memastikan komposisi lipid.

## **V.2 Saran**

Sebagai rekomendasi untuk penelitian kedepannya, perlu dilakukan hal-hal sebagai berikut :

1. Memberikan nutrient dengan normal nitrogen dan rendah nitrogen pada awal kultur agar perbandingan pertumbuhan sel dapat terlihat dengan jelas.
2. Melakukan kultur dengan penambahan kadar CO<sub>2</sub> pada volume kultur yang berbeda.
3. Menggunakan metode ekstraksi atau pelarut yang berbeda dari penelitian-penelitian sebelumnya agar diperoleh hasil lipid yang lebih baik.
4. Melakukan proses separasi yang berbeda agar diperoleh hasil lipid yang lebih baik pada saat analisa *Gas Chromatography*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amini, S. and Susilowati R.**2010.”Produksi Biodiesel dari Mikroalga *Botryococcus braunii*”.*Squalen*, 27.
- Aparamarta, H. W., Saputra, T., Claratika, A., Ju, Yi-Hsu, Gunawan, S.**2016. “Separation and Purification of Triacylglycerols from Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) Oil by Batchwise Solvent Extraction”. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 3113-3119.
- Ashokkumar, V., Aglia, E., Sivakumar, P., Salam, Z., Rengasamy, R., Nasir, F.**2014.”Optimization and Characterization of Biodiesel Production from Microalgae *Botryococcus braunii* at Semi-Continuous System”.*Energy Conversion and Management*, 936-946.
- Benson.**2001.”Microbiological Application”.New York : McGraw Hill Publisher.
- Bharathiraja, B., Chakravarthy, M., Kumar, R., Yogendran, D., Yuvaraj, D., Jayamuthunagai, J., Kumar, R.P., Palani, S.**2015.”Aquatic Biomass (Algae) as A Future Feed Stock for Bio-Refineries : A Review on Cultivation, Processing and Products”.*Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 636.
- Cecilia dan Kristian.**2017. ”Pengaruh Siklus Pencernaan terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Lipid Mikroalga *Botryococcus braunii* Termutasi UV-B dan Alami”. Laporan Skripsi Departemen Teknik Kimia FTI ITS.
- Chisti, Y.**2007.”Biodiesel from Microalgae”.*Biotechnology Advances*, 294-306.
- Chrismadha, T., Panggabean, L. M., Mardiaty, Y.** 2006. “Pengaruh Konsentrasi Nitrogen Dan Fosfor Terhadap Pertumbuhan, Kandungan Protein, Karbohidrat dan Fikosianin Pada Kultur *Spirulina fusiformis*”. Pusat Penelitian Limnologi-LIPI, Bogor.

- Dayananda, C., Sarada, R., Kumar, V., Ravishankar, G. A.** 2007. "Isolation and Characterization of Hydrocarbon Producing Green Alga *Botryococcus braunii* from Indian Freshwater Bodies". *Electronic Journal of Biotechnology*.
- Dhara, R., Dhar, P., Ghosh, M.** 2011. "Dietary effects of diacylglycerol rich mustard oil on lipid profile of normocholesterolemic and hypercholesterolemic rats". *Journal of Food Science and Technology*. 1-9.
- Faisal dan Maharani.** 2016. 'Pengaruh Kadar CO<sub>2</sub> terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Lipid Mikroalga *Botryococcus braunii* Termutasi UV-B". Laporan Skripsi Departemen Teknik Kimia FTI ITS.
- Faried, M., Samer, M., Abdelsalam, E., Yousef, R.S, Attaia, Y.A., Ali, A.S.** 2017. "Biodiesel Production from Microalgae: Processes, Technologies and Recent". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 894.
- Ge, Yaming., Liu, Junzhi., dan Tian, Guangming.** 2011. "Growth Characteristic of *Botryococcus braunii* 765 Under High CO<sub>2</sub> Concentration in Photobioreactor". *Bioresource Technology*, 130-134.
- Generis dan Megarani.** 2017. "Pengaruh Kadar Nitrogen terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Lipid Mikroalga *Botryococcus braunii* Termutasi UV-B". Laporan Skripsi Departemen Teknik Kimia FTI ITS.
- Gunzler, H. and Williams A.** 2001. "Handbook of Analytical Technique". Weinheim : Wiley-VCH.
- Hadiyanto and Azim, M.** 2012. "Mikroalga Sumber Pangan dan Energi Masa Depan". Semarang : UPT UNDIP Press.
- Hariseno dan Nuristiandari.** 2015. "Pengaruh Mutagen HNO<sub>2</sub> dan Sinar UV-B terhadap Pertumbuhan dan Produktivitas Lipid Mikroalga". Laporan Skripsi Departemen Teknik Kimia FTI ITS.
- Isnansetyo, Alim dan Kurniastuty.** 1995. "Teknik Kultur Phytoplankton Zooplankton". Pakan Alam untuk Pembenihan Organism Laut. Kanisius. Yogyakarta.

- Lee, S.J., S.B. Kim., Kwon, G.S., Yoon, B.D., dan Oh, H.M.** 1998. "Effects of Harvesting Method and Growth Stage on the Flocculation of the Green Alga *Botryococcus braunii*". *Letters in Applied Microbiology*, 14-17.
- Li Fen Wu., Pei Chung Chen., Chi Mei Lee.** 2013. "The Effects of Nitrogen Sources and Temperature on Cell Growth and Lipid Accumulation of Microalgae". *International Biodeterioration & Biodegradation*, 1-5.
- Mata, Teresa., Martins, Antonio., dan Caetano, Nidia.** 2010. "Microalgae for biodiesel production". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 217-232.
- Mulyawan dan Setyowati.** 2015. "Pengaruh Mutagen Sinar UV-B dan HNO<sub>2</sub> terhadap Pertumbuhan Mikroalga *Botryococcus braunii*". Laporan Skripsi Departemen Teknik Kimia FTI ITS.
- Pacheco, C., Palla, C., Crapiste, G. H., Carrin, M. E.** 2014. "Simultaneous Quantitation of FFA, MAG, DAG, and TAG in Enzymatically Modified Vegetable Oils and Fats". *Food Analytical Methods*. 1-10.
- Pieber, S., Schober, S., Mittelbach, M.** 2012. "Pressurized fluid extraction of polyunsaturated fatty acids from the microalga *Nannochloropsis oculata*". *Biomass and Bioenergy*. 474-482.
- Ranga, A.Rao., Sarada, R., dan Ravishankar, G.A.** 2007. "Influence of CO<sub>2</sub> on Growth and Hydrocarbon Production in *Botryococcus braunii*". *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 416-417.
- Ranga, A.Rao., Ravishankar, G.A., dan Sarada, R.** 2012. "Cultivation of Green Alga *Botryococcus braunii* Raceway, Circular Ponds Under Outdoor Conditions and its Growth, Hydrocarbon Production". *Bioresource Technology*, 528-533.
- Ruangsomboon, S.** 2012. "Effect of Light, Nutrient, Cultivation Time and Salinity on Lipid Production of Newly Isolated of the Green Microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2". *Bioresource Technology*, 261-265.

- Ruangsomboon, S., Prachom, N., Sornchai, P.** 2017. "Enhanced Growth and Hydrocarbon Production of *Botryococcus braunii* KMITL 2 by Optimum Carbon Dioxide Concentration and Concentration-Dependent Effects on its Biochemical Composition and Biodiesel Properties". *Bioresource Technology*, 14-16.
- Sharma, Kalpesh K., Holger Schuhmann dan Peer M. Schenk.** 2012. "High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production". *Energies*, 1533-1535.
- Sheehan, J., Dunahay, T, Benemann, J, Roessler, P.** 1998. The National Renewable Energy Laboratory, A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program—Biodiesel from Algae, A report for U.S. Department of Energy's Office of Fuels Development.
- Skerratt, J.H., Davidson, A.D., Nichols, P.D., and Mcmeekin, T.A.** .1998. "Effect of UV-B on Lipid Content of Three Antarctic Marine Phytoplankton". *Phytochemistry*, Vol 49, No 4, pp. 999-1007.
- Smith, Ray., Prezelin, B.B., dan Baker, K.S.** 1992. "Ozone Depletion – Ultraviolet Radiation and Phytoplankton Biology in Antarctic Waters". *JSTOR*, 952-957.
- Suryani.** 2008. "Penentuan Lipid Dalam Khamir *Rhodotorula* Dari Taman Nasional Gunung Halimun". *Universitas Indonesia*.
- Susilowati, Rini., Sri Amini.** 2010. "Produksi Biodiesel dari Mikroalga *Botryococcus braunii*". *Squalen*, 27.
- Tasic, M.B, Pinto, L.F.R, Klein, B.C., Veljkovic, V.B, Vilho, R.M.** 2016. "*Botryococcus braunii* for Biodiesel Production". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 260-270.
- Widaja, Arief., Chao-Chang Chien dan Yi-Hsu Ju.** 2009. "Study of Increasing Lipid Production from Fresh Water Microalgae *Chlorella vulgaris*". *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 40, 13-20.

- Xue, Lingui., Zhang, Yong., Zhang, Tengguo., An, Lizhie., dan Wang, Xunling.** 2005. "Effects of Enhanced Ultraviolet-B Radiation on Algae and Cyanobacteria". *Taylor & Francis Group*, 79-81.
- Zhang, K. and Kojima, E.**1998."Effect of Light Intensity on Colony Size of Microalga *Botryococcus braunii* in Bubble Column Photobioreactors".*Journal of Fermentation and Bioengineering*, 573-576.
- Zul, Delita., Chainulfiffah A., dan Irma Febrianis.**2003."Mutagenesis pada *Kluyveromyces Marxianus* T-2 Penghasil Inulinase Ekstraselular dengan Sinar Ultra Violet".*Jurnal Natur Indonesia*, 26.



*(halaman ini sengaja dikosongkan)*

## DAFTAR NOTASI

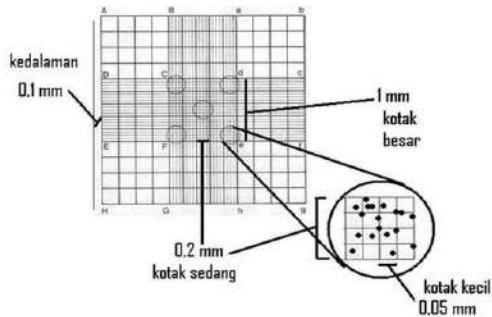
No	Notasi	Keterangan	Satuan
1.	m	Massa	Gram
2.	V	Volume	mL

*(halaman ini sengaja dikosongkan)*

## APPENDIKS

### A.1 Efek Ekstraksi dengan Pelarut *n*-hexane terhadap Berbagai Variabel

#### 1. Perhitungan *Counting Chamber*



Dalam analisa *counting chamber* digunakan 5 kotak besar yang tiap kotaknya memiliki luas berukuran  $0,04 \text{ mm}^2$ . Terlebih dahulu ditentukan 5 kotak yang akan dihitung jumlah sel yang terkandung dalam 5 kotak tersebut.

A				B
		C		
D				E

Contoh perhitungan pre kultur alami

Jam ke	Run	A	B	C	D	E	Total	Jumlah Sel Rata-Rata / Kotak
168	I	36	44	34	43	45	202	40,4
	II	41	34	41	45	47	208	41,6
	III	42	44	49	44	46	225	45
Jumlah								127

Diketahui :

Faktor pengenceran = 10

Tebal hemasitometer = 0,1 mm

Jumlah sel / kotak =  $127/3 = 42,33$  sel / kotak

Jumlah sel / mm<sup>3</sup> =  $42,33 \times \frac{\text{sel}}{\text{kotak}} \times \frac{1 \text{ kotak}}{0,04 \text{ mm}^2} \times \frac{1}{0,1 \text{ mm}}$   
 $\times 10$

= 105.833,333 sel / mm<sup>3</sup>

Jumlah sel / mL =  $105.833,333 \times \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{1 \text{ mL}}$

= 105.833.333 sel / mL

**Perhitungan pre kultur mikroalga alami dan mutasi selama 7 hari**

Jam Ke	Mikroalga Alami (Jumlah sel/mL)	Mikroalga Mutasi (Jumlah sel/mL)
0	26.166.667	27.000.000
24	34.166.667	38.833.333
48	50.500.000	67.166.667
72	62.000.000	73.166.667
96	92.833.333	94.666.667
120	95.833.333	97.833.333

144	97.833.333	100.000.000
168	105.833.333	110.833.333

## 2. Persen Kematian

Perlu dilakukan perhitungan persen kematian untuk mengetahui berapa banyak alga yang mati terkena radiasi sinar UV-B

Rumus persen kematian:

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{sebelum disinari UVB} - \text{setelah disinari UVB}}{\text{sebelum disinari UVB}} \times 100\%$$

Run ke	Sebelum disinari UV-B	Setelah disinari UV-B	% kematian rata-rata
I	110.833.333	75.666.667	29,72
II		81.166.667	
III		76.833.333	

## 3. Perhitungan Jumlah Sel dan Pengukuran pH

Pada variabel penambahan CO<sub>2</sub>, siklus pencahayaan dan pengurangan kadar nitrogen dilakukan perhitungan jumlah sel dan pengukuran pH. Perhitungan jumlah sel dengan analisa *counting chamber* dan pengukuran pH menggunakan kertas pH

- Mikroalga *B.braunii* alami

### Variabel normal nutrien 20 hari kultur

Hari	Jumlah Sel / mL	pH
0	50.500.000	8,5

1	57.166.667	8,5
2	66.333.333	8,5
3	71.500.000	8,0
4	79.500.000	8,0
5	81.000.000	8,0
6	89.500.000	8,0
7	98.333.333	7,5
8	103.333.333	7,5
9	105.333.333	7,5
10	119.000.000	7,5
11	124.000.000	7,5
12	125.000.000	7,5
13	136.666.667	7,5
14	146.000.000	7,0
15	152.000.000	7,0
16	165.000.000	7,0
17	168.333.333	7,0
18	168.833.333	7,0
19	169.500.000	7,0
20	169.666.667	7,0

**Variabel pengurangan kadar nitrogen dalam nutrisi 20 hari kultur**

Hari	Jumlah Sel / mL	pH
0	51.166.667	8,5
1	58.666.667	8,5
2	67.833.333	8,5
3	76.333.333	8,0
4	84.333.333	8,0

5	85.500.000	8,0
6	91.500.000	8,0
7	100.333.333	8,0
8	106.166.667	7,5
9	111.500.000	7,5
10	123.500.000	7,5
11	125.833.333	7,5
12	130.000.000	7,5
13	138.500.000	7,5
14	141.000.000	7,0
15	144.000.000	7,0
16	157.000.000	7,0
17	159.500.000	7,0
18	159.833.333	7,0
19	160.333.333	7,0
20	160.666.667	7,0

- **Mikroalga *B.braunii* mutasi**  
**Variabel normal nutrien 20 hari kultur**

Hari	Jumlah Sel / mL	pH
0	55.500.000	8,5
1	61.833.333	8,5
2	68.500.000	8,5
3	75.666.667	8,5
4	83.666.667	8,0
5	85.166.667	8,0
6	91.333.333	8,0
7	100.333.333	8,0



8	110.833.333	7,5
9	111.333.333	7,5
10	126.000.000	7,5
11	131.833.333	7,5
12	132.500.000	7,5
13	140.666.667	7,5
14	147.000.000	7,0
15	152.333.333	7,0
16	167.833.333	7,0
17	169.000.000	7,0
18	169.166.667	7,0
19	169.666.667	7,0
20	170.000.000	7,0

**Variabel pengurangan kadar nitrogen  
dalam Nutrien 20 hari kultur**

Hari	Jumlah Sel / mL	pH
0	55.500.000	8,5
1	64.166.667	8,5
2	69.000.000	8,5
3	80.500.000	8,0
4	86.166.667	8,0
5	88.333.333	8,0
6	98.000.000	8,0
7	102.833.333	8,0
8	111.833.333	7,5
9	119.000.000	7,5
10	137.666.667	7,5
11	139.166.667	7,5

12	141.833.333	7,5
13	142.333.333	7,5
14	143.500.000	7,5
15	147.833.333	7,0
16	159.333.333	7,0
17	161.666.667	7,0
18	162.000.000	7,0
19	162.333.333	7,0
20	162.500.000	7,0

#### 4. Perhitungan Konsentrasi Biomassa

Untuk mengetahui biomassa mikroalga dapat dilakukan analisa biomassa yaitu dengan persamaan berikut :

$$\text{Konsentrasi biomassa} = \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{volume kultur (L)}}$$

Konsentrasi biomassa *B.braunii* alami dengan kadar nitrogen normal dalam Nutrien 20 hari kultur

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi Biomassa} &= \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{volume kultur (L)}} \\ &= 1,543/0,5 = 3,086 \text{ g/L} \\ &= 3,086 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

**Tabel Perhitungan Kosentrasi Biomassa**

Kondisi	Waktu Kultur (Hari)	Variabel	Massa dry alga (gr)	Volume kultur (L)	Konsentrasi Biomassa (gr/liter)
Alami	7	Normal Nitrogen	1,43	0,5	2,87
		Rendah Nitrogen	1,54	0,5	3,09
	20	Normal Nitrogen	1,54	0,5	3,08
		Rendah Nitrogen	1,64	0,5	3,27
Mutasi	7	Normal Nitrogen	1,83	0,5	3,67
		Rendah Nitrogen	1,99	0,5	3,98
	20	Normal Nitrogen	1,87	0,5	3,74
		Rendah Nitrogen	2,00	0,5	4,00

## 5. Perhitungan Produktivitas Biomassa

Rumus perhitungan produktivitas biomassa

$$\text{Produktivitas Biomassa} = \frac{\Delta \text{sel/mL}}{7 \text{ hari}} \times \frac{\text{konsentrasi biomassa } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right)}{\text{konsentrasi sel } \left(\frac{\text{sel}}{\text{mL}}\right)}$$

Produktivitas biomassa *B.braunii* alami dengan kadar nitrogen normal dalam Nutrien 20 hari kultur

$$= \frac{\Delta \text{sel/mL}}{20 \text{ hari}} \times \frac{\text{konsentrasi biomassa } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right)}{\text{konsentrasi sel } \left(\frac{\text{sel}}{\text{mL}}\right)}$$

$$= \frac{(169.666.667 - 50.500.000) \text{ sel/mL}}{20} \times \frac{3,086 \text{ mg/mL}}{169.666.667 \text{ sel/mL}}$$

$$= 0,108 \text{ (mg/mL)/hari}$$

**Tabel Perhitungan Massa Sel dan Produktivitas Biomassa**

Kondisi	Waktu Kultur (Hari)	Variabel	$\frac{\Delta \text{sel/mL}}{\text{hari}}$	$\frac{\text{konsentrasi biomassa } (\frac{\text{mg}}{\text{mL}})}{\text{konsentrasi sel } (\frac{\text{sel}}{\text{mL}})}$	Produktivitas Biomassa (mg/mL)
Alami	7	Normal Nitrogen	7.023.809	$2,890 \times 10^{-8}$	0,203
		Rendah Nitrogen	6.666.667	$3,106 \times 10^{-8}$	0,207
	20	Normal Nitrogen	5.958.333	$1,818 \times 10^{-8}$	0,108
		Rendah Nitrogen	5.475.000	$2,039 \times 10^{-8}$	0,112
Mutasi	7	Normal Nitrogen	6.428.571	$3,641 \times 10^{-8}$	0,234
		Rendah Nitrogen	6.809.523	$3,884 \times 10^{-8}$	0,264
	20	Normal Nitrogen	5.725.000	$2,198 \times 10^{-8}$	0,126
		Rendah Nitrogen	5.350.000	$2,462 \times 10^{-8}$	0,132

## 6. Perhitungan Konsentrasi Lipid

Kandungan lipid yang diperoleh dapat dihitung dengan persamaan berikut :

$$\text{Konsentrasi lipid (\%)} = \frac{\text{massa lipid (gram)}}{\text{massa dry alga (gram)}} \times 100 \%$$

Konsentrasi lipid *B.braunii* alami variabel normal  
nutrien 20 hari kultur

$$= \frac{0,713}{1,543} \times 100 \%$$

$$= 46,209 \%$$

**Tabel Konsentrasi Lipid**

Kondisi	Waktu Kultur (Hari)	Variabel	Massa Lipid (gr)	Massa Alga Kering (gr)	Konsentrasi Lipid (%)
Alami	7	Normal Nitrogen	0,51	1,43	35,60
		Rendah Nitrogen	0,81	1,54	52,26
	20	Normal Nitrogen	0,71	1,54	46,20
		Rendah Nitrogen	0,89	1,63	54,39
Mutasi	7	Normal Nitrogen	0,96	1,83	52,29
		Rendah Nitrogen	1,28	1,99	64,19
	20	Normal Nitrogen	1,09	1,86	58,32
		Rendah Nitrogen	1,33	2,00	66,46

## 7. Perhitungan Produktivitas Lipid

Produktivitas lipid dapat dihitung dengan persamaan :

$$\text{Produktivitas Lipid} = \frac{\text{produktivitas biomassa} \frac{\text{g/L}}{\text{hari}} \times \text{konsentrasi lipid}}{100}$$

Produktivitas lipid yang diperoleh dapat dihitung dengan persamaan berikut :

$$\begin{aligned} &= \frac{0,108 \times 46,209}{100} \\ &= 0,050 \text{ (g/L)/hari} \\ &= 0,050 \text{ (mg/mL)/hari} \end{aligned}$$

**Tabel Perhitungan Produktivitas Lipid**

Kondisi	Waktu Kultur (Hari)	Variabel	Produktivitas biomassa (mg/mL)/ hari	Lipid content	Produktivitas Lipid (mg/mL)/ hari
Alami	7	Normal Nitrogen	0,203	35,60	0,072
		Rendah Nitrogen	0,207	52,26	0,108
	20	Normal Nitrogen	0,108	46,20	0,050
		Rendah Nitrogen	0,112	54,39	0,060
Mutasi	7	Normal Nitrogen	0,234	52,29	0,122

		Rendah Nitrogen	0,264	64,19	0,169
	20	Normal Nitrogen	0,126	58,32	0,073
		Rendah Nitrogen	0,132	66,46	0,087

## A.2 Efek Ekstraksi dengan Pelarut *n-hexane* dan *methanol* terhadap Berbagai Variabel

### 1. Perhitungan Jumlah Sel dan Pengukuran pH

Pada variabel penambahan CO<sub>2</sub>, siklus pencahayaan dan pengurangan kadar nitrogen dilakukan perhitungan jumlah sel dan pengukuran pH. Perhitungan jumlah sel dengan analisa *counting chamber* dan pengukuran pH menggunakan kertas pH

- Mikroalga *B.braunii* alami

#### Variabel normal nutrien 20 hari kultur

Hari	Jumlah Sel / mL	pH
0	43.833.333	8,5
1	46.500.000	8,5
2	54.000.000	8,5
3	60.333.333	8,0
4	64.000.000	8,0
5	77.333.333	8,0
6	85.833.333	8,0
7	98.500.000	8,0
8	102.833.333	8,0
9	116.000.000	8,0
10	124.833.333	8,0

11	129.000.000	8,0
12	136.833.333	8,0
13	146.666.667	7,5
14	154.833.333	7,5
15	156.666.667	7,5
16	163.666.667	7,5
17	165.666.667	7,5
18	166.500.000	7,5
19	167.000.000	7,0
20	167.166.667	7,0

**Variabel pengurangan kadar nitrogen  
dalam nutrisi 20 hari kultur**

Hari	Jumlah Sel / mL	pH
0	44.000.000	8,5
1	48.666.667	8,5
2	59.500.000	8,5
3	65.833.333	8,5
4	68.500.000	8,0
5	74.666.667	8,0
6	81.500.000	8,0
7	93.833.333	8,0
8	98.500.000	8,0
9	99.166.667	8,0
10	118.833.333	8,0
11	124.000.000	8,0
12	133.666.667	8,0
13	146.000.000	7,5
14	148.333.333	7,5



15	149.666.667	7,5
16	150.666.667	7,5
17	155.333.333	7,5
18	155.500.000	7,5
19	158.666.667	7,0
20	160.333.333	7,0

- **Mikroalga *B.braunii* mutasi**  
**Variabel normal nutrien 20 hari kultur**

Hari	Jumlah Sel / mL	pH
0	43.833.333	8,5
1	54.166.667	8,5
2	60.333.333	8,5
3	66.666.667	8,0
4	71.500.000	8,0
5	83.166.667	8,0
6	95.833.333	8,0
7	101.833.333	8,0
8	113.666.667	8,0
9	125.500.000	8,0
10	136.000.000	8,0
11	144.166.667	8,0
12	155.833.333	8,0
13	159.833.333	7,5
14	166.166.667	7,5
15	169.500.000	7,5
16	174.333.333	7,5
17	178.000.000	7,5

18	178.833.333	7,0
19	182.000.000	7,0
20	183.833.333	7,0

**Variabel pengurangan kadar nitrogen  
dalam Nutrien 20 hari kultur**

Hari	Jumlah Sel / mL	pH
0	44.166.667	8,5
1	56.000.000	8,5
2	64.500.000	8,5
3	69.833.333	8,0
4	75.666.667	8,0
5	84.333.333	8,0
6	90.000.000	8,0
7	99.833.333	8,0
8	107.000.000	8,0
9	120.833.333	8,0
10	126.500.000	8,0
11	136.000.000	8,0
12	142.000.000	8,0
13	149.666.667	8,0
14	155.666.667	7,5
15	159.666.667	7,5
16	165.500.000	7,5
17	168.000.000	7,5
18	168.166.667	7,0
19	169.500.000	7,0
20	171.166.667	7,0

## 2. Perhitungan Konsentrasi Biomassa

Untuk mengetahui biomassa mikroalga dapat dilakukan analisa biomassa yaitu dengan persamaan berikut :

$$\text{Konsentrasi biomassa} = \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{volume kultur (L)}}$$

Konsentrasi biomassa *B.braunii* alami dengan kadar nitrogen normal dalam Nutrien 20 hari kultur

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi Biomassa} &= \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{volume kultur (L)}} \\ &= 1,274/0,5 = 2,548 \text{ g/L} \\ &= 2,548 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

**Tabel Perhitungan Kosentrasi Biomassa**

Kondisi	Waktu Kultur (Hari)	Variabel	Massa dry alga (gr)	Volume kultur (L)	Konsentrasi Biomassa (gr/liter)
Alami	7	Normal Nitrogen	0,93	0,5	1,87
		Rendah Nitrogen	1,14	0,5	2,29
	20	Normal Nitrogen	1,27	0,5	2,54
		Rendah Nitrogen	1,44	0,5	2,88
Mutasi	7	Normal Nitrogen	1,25	0,5	2,50

		Rendah Nitrogen	1,34	0,5	2,68
	20	Normal Nitrogen	1,64	0,5	3,28
		Rendah Nitrogen	1,84	0,5	3,68

### 3. Perhitungan Produktivitas Biomassa

Rumus perhitungan produktivitas biomassa

$$\text{Produktivitas Biomassa} = \frac{\Delta \text{sel/mL}}{7 \text{ hari}} \times \frac{\text{konsentrasi biomassa } (\frac{\text{mg}}{\text{mL}})}{\text{konsentrasi sel } (\frac{\text{sel}}{\text{mL}})}$$

**Tabel Perhitungan Massa Sel dan Produktivitas Biomassa**

Kondisi	Waktu Kultur (Hari)	Variabel	$\frac{\Delta \text{sel/mL}}{\text{hari}}$	$\frac{\text{konsentrasi biomassa } (\frac{\text{mg}}{\text{mL}})}{\text{konsentrasi sel } (\frac{\text{sel}}{\text{mL}})}$	Produktivitas Biomassa (mg/mL)
Alami	7	Normal Nitrogen	7.809.523	$1,904 \times 10^{-8}$	0,149
		Rendah Nitrogen	7.047.619	$2,460 \times 10^{-8}$	0,173
	20	Normal Nitrogen	6.166.667	$1,524 \times 10^{-8}$	0,094
		Rendah Nitrogen	5.816.667	$1,801 \times 10^{-8}$	0,105
Mutasi	7	Normal Nitrogen	8.357.142	$2,450 \times 10^{-8}$	0,205
		Rendah Nitrogen	7.952.380	$2,692 \times 10^{-8}$	0,214

	20	Normal Nitrogen	7.000.000	$1,788 \times 10^{-8}$	0,125
		Rendah Nitrogen	5.350.000	$2,269 \times 10^{-8}$	0,121

**4. Perhitungan Konsentrasi Lipid**

Kandungan lipid yang diperoleh dapat dihitung dengan persamaan berikut :

Konsentrasi lipid (%) =

$$\frac{\text{massa lipid (gram)}}{\text{massa dry alga (gram)}} \times 100 \%$$

Konsentrasi lipid *B.braunii* alami variabel normal  
nutrien 20 hari kultur  
=  $\frac{0,400}{1,274} \times 100 \%$   
= 31,397 %

**Tabel Konsentrasi Lipid**

Kondisi	Waktu Kultur (Hari)	Variabel	Massa Lipid (gr)	Massa Alga Kering (gr)	Konsentrasi Lipid (%)
Alami	7	Normal Nitrogen	0,21	0,93	22,60
		Rendah Nitrogen	0,32	1,14	27,87
	20	Normal Nitrogen	0,40	1,27	31,39
		Rendah Nitrogen	0,52	1,44	36,50
Mutasi	7	Normal Nitrogen	0,40	1,25	31,89

		Rendah Nitrogen	0,48	1,34	35,71
	20	Normal Nitrogen	0,65	1,64	39,84
		Rendah Nitrogen	0,76	1,84	41,21

## 5. Perhitungan Produktivitas Lipid

Produktivitas lipid dapat dihitung dengan persamaan :

$$\text{Produktivitas Lipid} = \frac{\text{produktivitas biomassa} \frac{\text{g/L}}{\text{hari}} \times \text{konsentrasi lipid}}{100}$$

**Tabel Perhitungan Produktivitas Lipid**

Kondisi	Waktu Kultur (Hari)	Variabel	Produktivitas biomassa (mg/mL)/ hari	<i>Lipid content</i>	Produktivitas Lipid (mg/mL)/ hari
Alami	7	Normal Nitrogen	0,149	22,60	0,033
		Rendah Nitrogen	0,173	27,87	0,048
	20	Normal Nitrogen	0,094	31,39	0,029
		Rendah Nitrogen	0,105	36,50	0,038
Mutasi	7	Normal Nitrogen	0,205	31,89	0,065
		Rendah Nitrogen	0,214	35,71	0,076

	20	Normal Nitrogen	0,125	39,84	0,049
		Rendah Nitrogen	0,121	41,21	0,050

### A.3 Efek Ekstraksi dengan Pelarut *n-hexane* dan *methanol* terhadap Berbagai Variabel

#### 1. Perhitungan Jumlah Sel dan Pengukuran pH

Pada variabel tanpa penambahan CO<sub>2</sub>, siklus pencahayaan dan pengurangan kadar nitrogen dilakukan perhitungan jumlah sel dan pengukuran pH. Perhitungan jumlah sel dengan analisa *counting chamber* dan pengukuran pH menggunakan kertas pH

- Mikroalga *B.braunii* alami

#### Variabel normal nutrien 20 hari kultur

Hari	Jumlah Sel / mL	pH
0	33.500.000	8,5
1	38.333.333	8,5
2	43.500.000	8,5
3	48.500.000	8,0
4	54.000.000	8,0
5	65.666.667	8,0
6	75.833.333	8,0
7	80.166.667	8,0
8	83.500.000	8,0
9	88.666.667	8,0
10	98.666.667	8,0
11	103.666.667	8,0

12	104.000.000	7,5
13	106.333.333	7,5
14	110.500.000	7,5
15	117.333.333	7,5
16	124.000.000	7,5
17	125.500.000	7,0
18	126.833.333	7,0
19	130.000.000	7,0
20	136.333.333	7,0

**Variabel pengurangan kadar nitrogen dalam nutrisi 20 hari kultur**

Hari	Jumlah Sel / mL	pH
0	35.833.333	8,5
1	41.500.000	8,5
2	44.166.667	8,5
3	50.166.667	8,0
4	59.166.667	8,0
5	69.333.333	8,0
6	78.166.667	8,0
7	85.166.667	8,0
8	86.333.333	8,0
9	91.333.333	8,0
10	93.500.000	8,0
11	99.333.333	8,0
12	102.500.000	7,5
13	105.833.333	7,5
14	107.500.000	7,5
15	111.000.000	7,0



16	113.333.333	7,0
17	114.000.000	7,0
18	119.166.667	7,0
19	124.833.333	7,0
20	128.166.667	7,0

• **Mikroalga *B.braunii* mutasi**  
**Variabel normal nutrien 20 hari kultur**

Hari	Jumlah Sel / mL	pH
0	38.000.000	8,5
1	45.833.333	8,5
2	49.166.667	8,5
3	55.500.000	8,0
4	60.166.667	8,0
5	71.166.667	8,0
6	82.000.000	8,0
7	87.000.000	8,0
8	94.000.000	8,0
9	96.666.667	8,0
10	107.333.333	7,5
11	109.500.000	7,5
12	112.666.667	7,5
13	118.833.333	7,5
14	120.500.000	7,5
15	136.666.667	7,5
16	144.666.667	7,5
17	145.000.000	7,0
18	149.166.667	7,0

19	149.500.000	7,0
20	151.833.333	7,0

**Variabel pengurangan kadar nitrogen  
dalam Nutrien 20 hari kultur**

Hari	Jumlah Sel / mL	pH
0	40.166.667	8,5
1	49.833.333	8,5
2	57.833.333	8,5
3	58.000.000	8,5
4	60.166.667	8,0
5	72.333.333	8,0
6	84.000.000	8,0
7	85.500.000	8,0
8	91.166.667	8,0
9	97.666.667	8,0
10	104.333.333	8,0
11	107.666.667	7,5
12	111.500.000	7,5
13	111.666.667	7,5
14	112.500.000	7,5
15	124.333.333	7,5
16	125.833.333	7,5
17	132.666.667	7,5
18	136.666.667	7,0
19	137.666.667	7,0
20	140.166.667	7,0

## 2. Perhitungan Konsentrasi Biomassa

Untuk mengetahui biomassa mikroalga dapat dilakukan analisa biomassa yaitu dengan persamaan berikut :

$$\text{Konsentrasi biomassa} = \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{volume kultur (L)}}$$

Konsentrasi biomassa *B.braunii* alami dengan kadar nitrogen normal dalam Nutrien 20 hari kultur

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi Biomassa} &= \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{volume kultur (L)}} \\ &= 0,653/0,5 = 1,307 \text{ g/L} \\ &= 1,307 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

**Tabel Perhitungan Kosentrasi Biomassa**

Kondisi	Waktu Kultur (Hari)	Variabel	Massa dry alga (gr)	Volume kultur (L)	Konsentrasi Biomassa (gr/liter)
Alami	7	Normal Nitrogen	0,66	0,5	1,33
		Rendah Nitrogen	0,44	0,5	0,89
	20	Normal Nitrogen	0,65	0,5	1,30
		Rendah Nitrogen	0,49	0,5	0,98

Mutasi	7	Normal Nitrogen	0,94	0,5	1,89
		Rendah Nitrogen	0,84	0,5	1,69
	20	Normal Nitrogen	0,86	0,5	1,72
		Rendah Nitrogen	0,61	0,5	1,22

### 3. Perhitungan Produktivitas Biomassa

Rumus perhitungan produktivitas biomassa

$$\text{Produktivitas Biomassa} = \frac{\Delta \text{sel} / \text{mL}}{7 \text{ hari}} \times \frac{\text{konsentrasi biomassa} \left( \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right)}{\text{konsentrasi sel} \left( \frac{\text{sel}}{\text{mL}} \right)}$$

**Tabel Perhitungan Massa Sel dan Produktivitas Biomassa**

Kondisi	Waktu Kultur (Hari)	Variabel	$\frac{\Delta \text{sel} / \text{mL}}{\text{hari}}$	$\frac{\text{konsentrasi biomassa} \left( \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right)}{\text{konsentrasi sel} \left( \frac{\text{sel}}{\text{mL}} \right)}$	Produktivitas Biomassa (mg/mL)
Alami	7	Normal Nitrogen	6.571.428	$1,670 \times 10^{-8}$	0,110
		Rendah Nitrogen	6.809.523	$1,073 \times 10^{-8}$	0,073
	20	Normal Nitrogen	5.141.667	$9,591 \times 10^{-9}$	0,049
		Rendah Nitrogen	4.616.667	$7,705 \times 10^{-9}$	0,036
Mutasi	7	Normal Nitrogen	6.833.333	$2,200 \times 10^{-8}$	0,150
		Rendah	6.571.428	$1,972 \times 10^{-8}$	0,130

		Nitrogen			
	20	Normal Nitrogen	5.691.667	$1,137 \times 10^{-8}$	0,065
		Rendah Nitrogen	5.000.000	$8,758 \times 10^{-9}$	0,044

#### 4. Perhitungan Konsentrasi Lipid

Kandungan lipid yang diperoleh dapat dihitung dengan persamaan berikut :

Konsentrasi lipid (%) =

$$\frac{\text{massa lipid (gram)}}{\text{massa dry alga (gram)}} \times 100 \%$$

Konsentrasi lipid *B.braunii* alami variabel normal  
nutrien 20 hari kultur  
=  $\frac{0,250}{0,653} \times 100 \%$   
= 38,238 %

Tabel Konsentrasi Lipid

Kondisi	Waktu Kultur (Hari)	Variabel	Massa Lipid (gr)	Massa Alga Kering (gr)	Konsentrasi Lipid (%)
Alami	7	Normal Nitrogen	0,16	0,66	23,95
		Rendah Nitrogen	0,15	0,44	33,48
	20	Normal Nitrogen	0,25	0,65	38,23
		Rendah Nitrogen	0,19	0,49	38,47

Mutasi	7	Normal Nitrogen	0,24	0,94	25,31
		Rendah Nitrogen	0,33	0,84	38,91
	20	Normal Nitrogen	0,36	0,86	41,67
		Rendah Nitrogen	0,27	0,61	43,98

### 5. Perhitungan Produktivitas Lipid

Produktivitas lipid dapat dihitung dengan persamaan :

$$\text{Produktivitas Lipid} = \frac{\text{produktivitas biomassa} \frac{\text{g/L}}{\text{hari}} \times \text{konsentrasi lipid}}{100}$$

**Tabel Perhitungan Produktivitas Lipid**

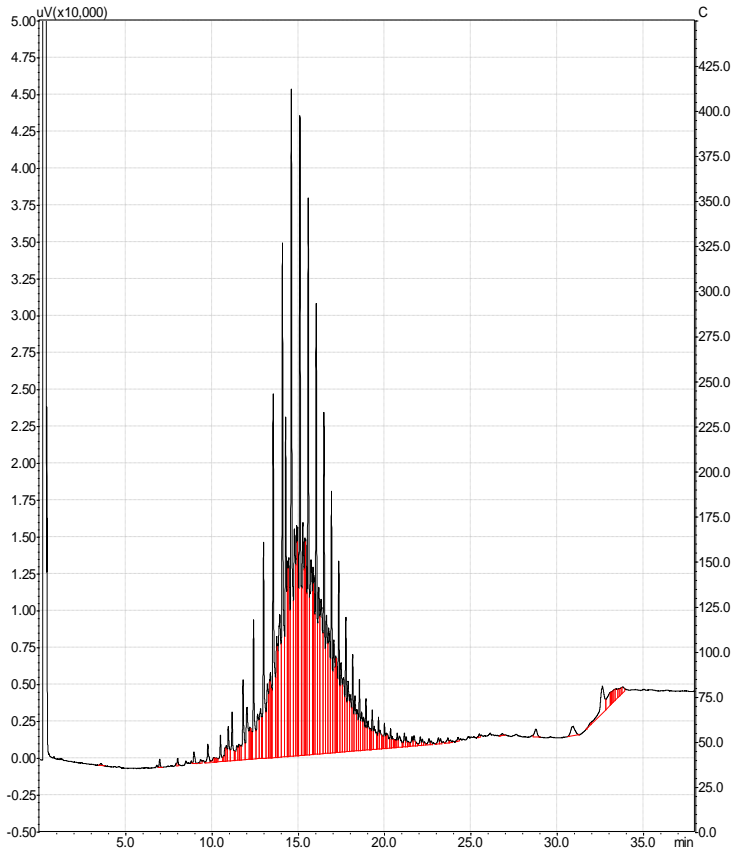
Kondisi	Waktu Kultur (Hari)	Variabel	Produktivitas biomass (mg/mL)/ hari	<i>Lipid content</i>	Produktivitas Lipid (mg/mL)/ hari
Alami	7	Normal Nitrogen	0,110	23,95	0,026
		Rendah Nitrogen	0,073	33,48	0,024
	20	Normal Nitrogen	0,049	38,23	0,019
		Rendah Nitrogen	0,036	38,47	0,013
Mutasi	7	Normal Nitrogen	0,150	25,31	0,038

		Rendah Nitrogen	0,130	38,91	0,050
	20	Normal Nitrogen	0,065	41,67	0,027
		Rendah Nitrogen	0,044	43,98	0,019

## LAMPIRAN

Hasil analisa Gas *Chromatography* (GC)

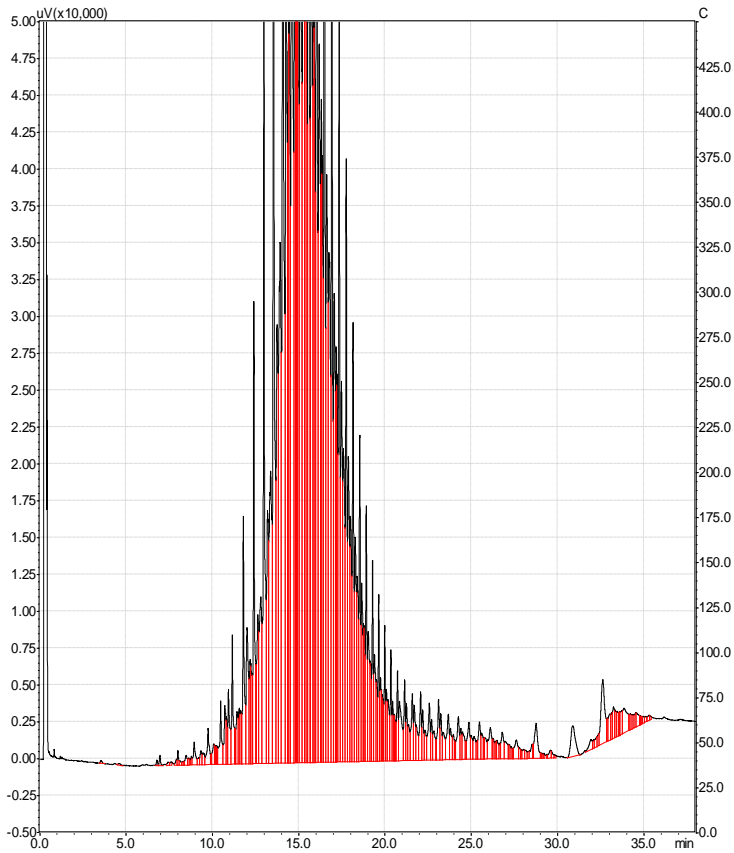
1. Dengan Pelarut *n*-hexane dan penambahan CO<sub>2</sub> 50 mL/min
  - a. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
37.0855	34.6314	1.549	2.3284

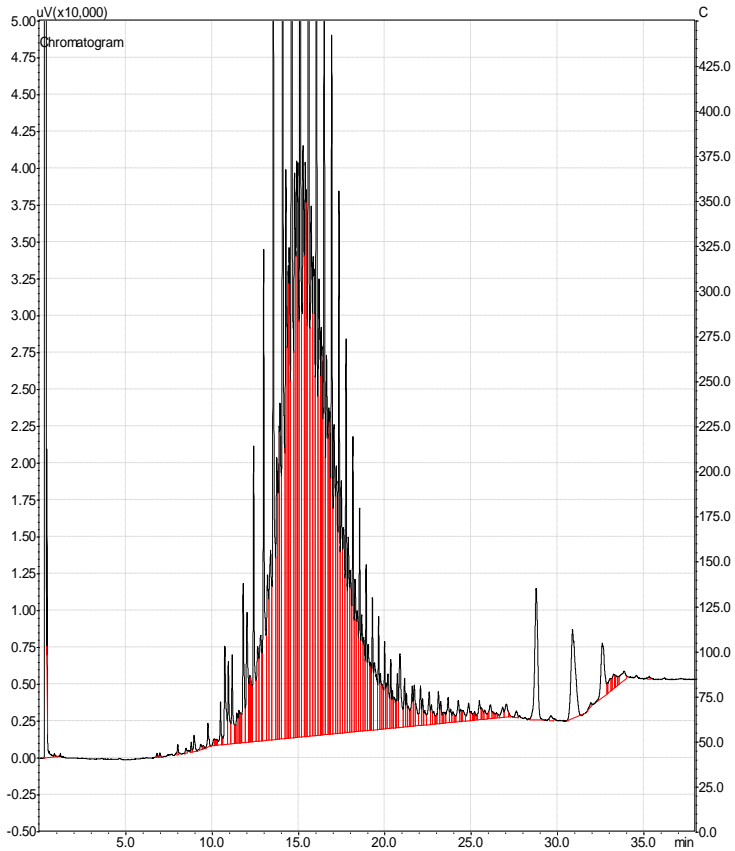


- b. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



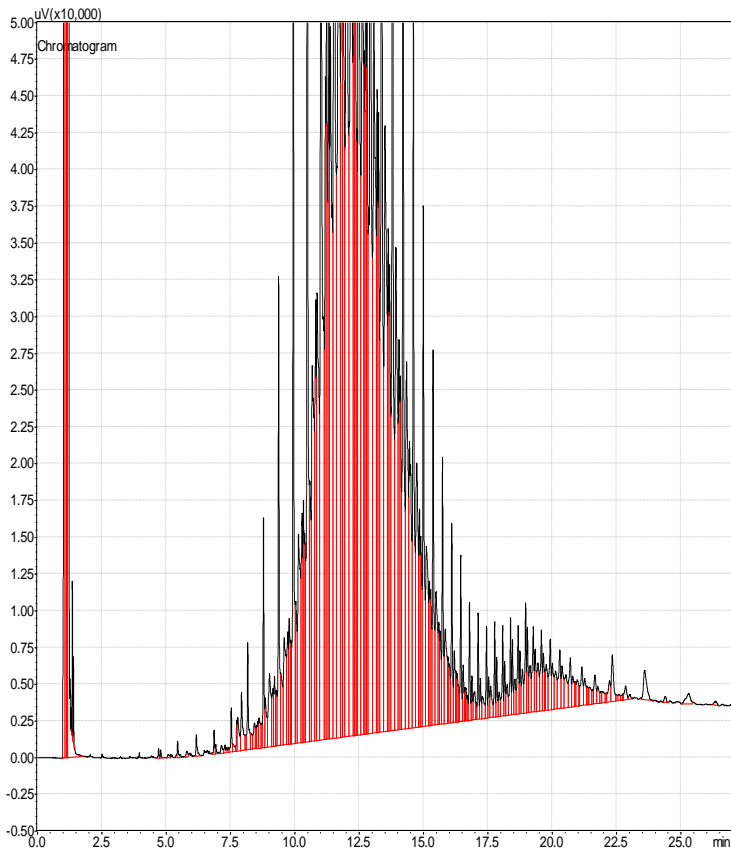
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
18.7811	33.5846	2.293	3.1293

c. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



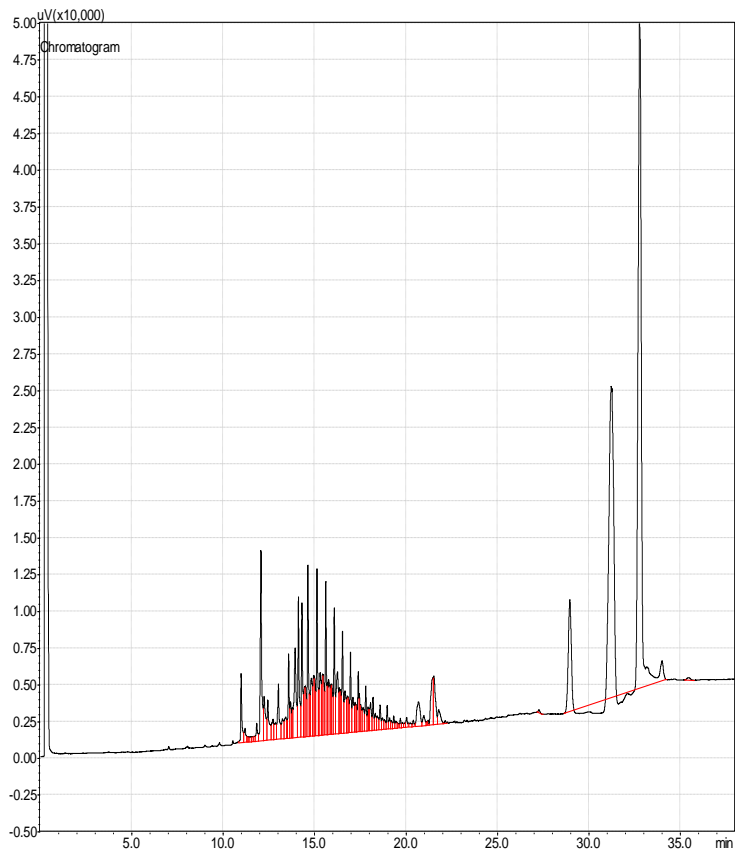
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
19.0339	24.8301	2.4037	3.4454

- d. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



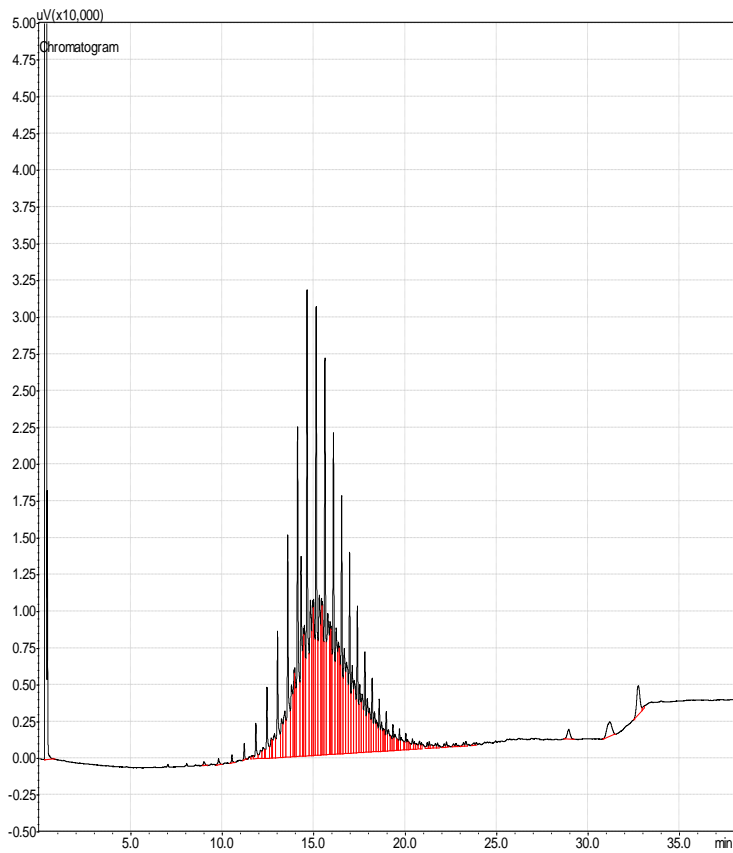
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
34.762	44.2513	1.6039	1.1658

- e. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



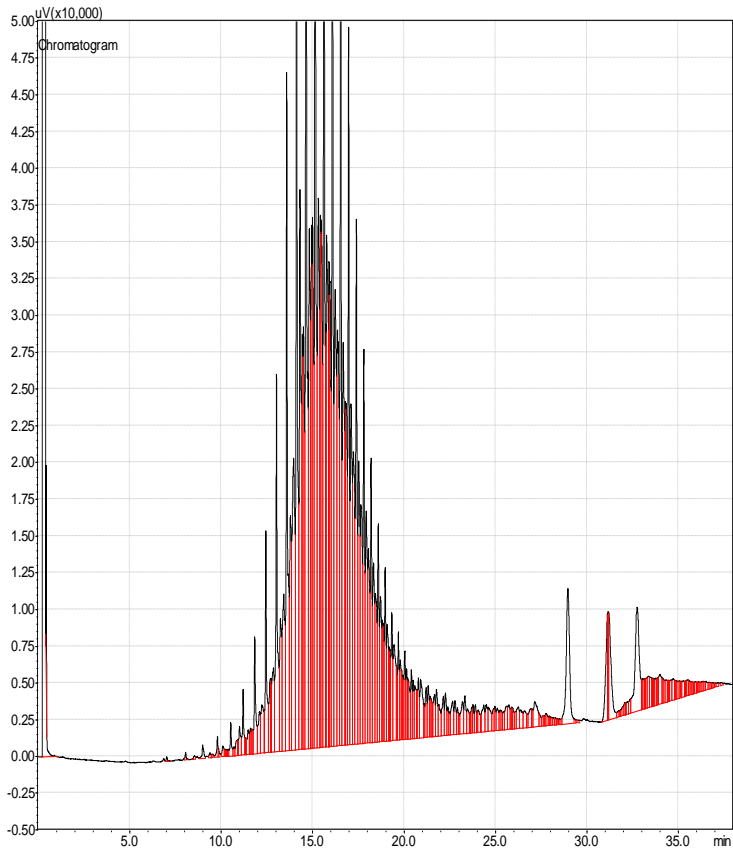
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
14.1102	15.8363	4.6152	48.2609

- f. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



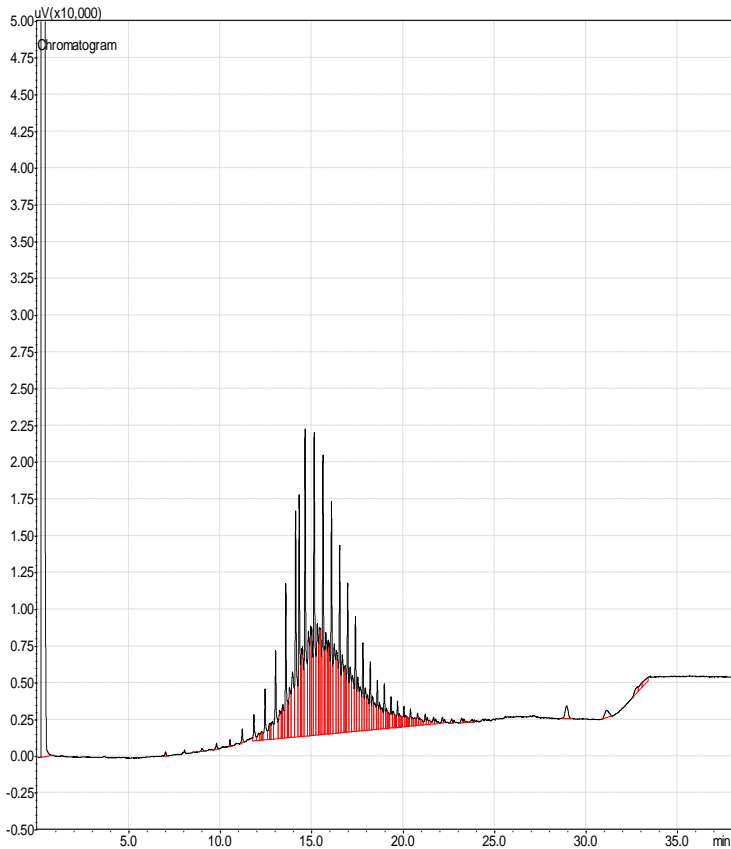
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
17.6876	39.7264	1.384	2.0022

- g. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
14.9043	31.8794	3.376	7.9664

- h. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari

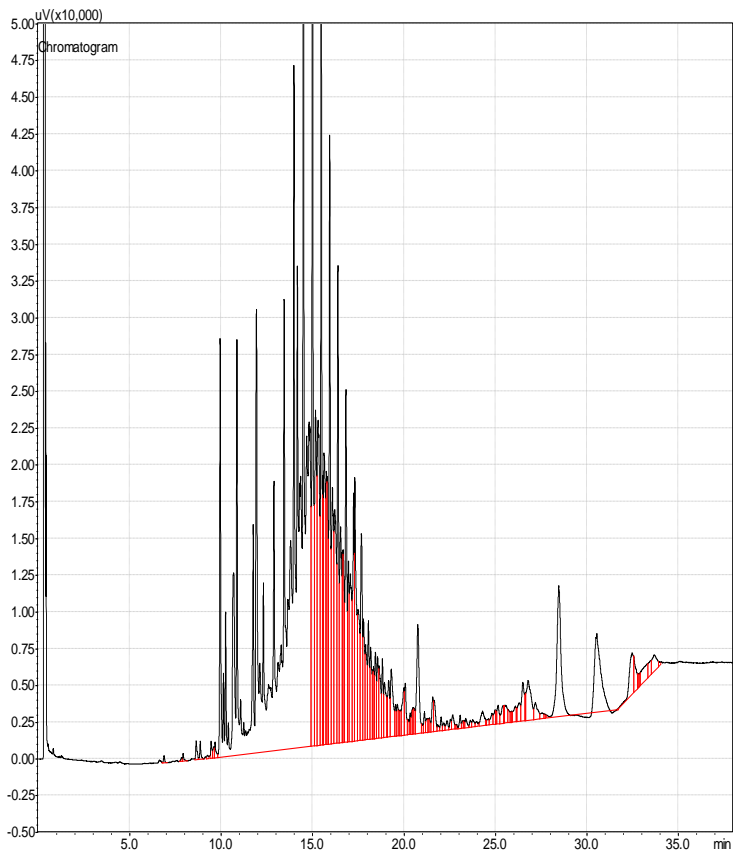


Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
16.8245	33.5682	2.7743	1.6721

2. Dengan Pelarut *n*-hexane dan *methanol* (2:1) serta penambahan CO<sub>2</sub> 50 mL/min

- STAGE 1

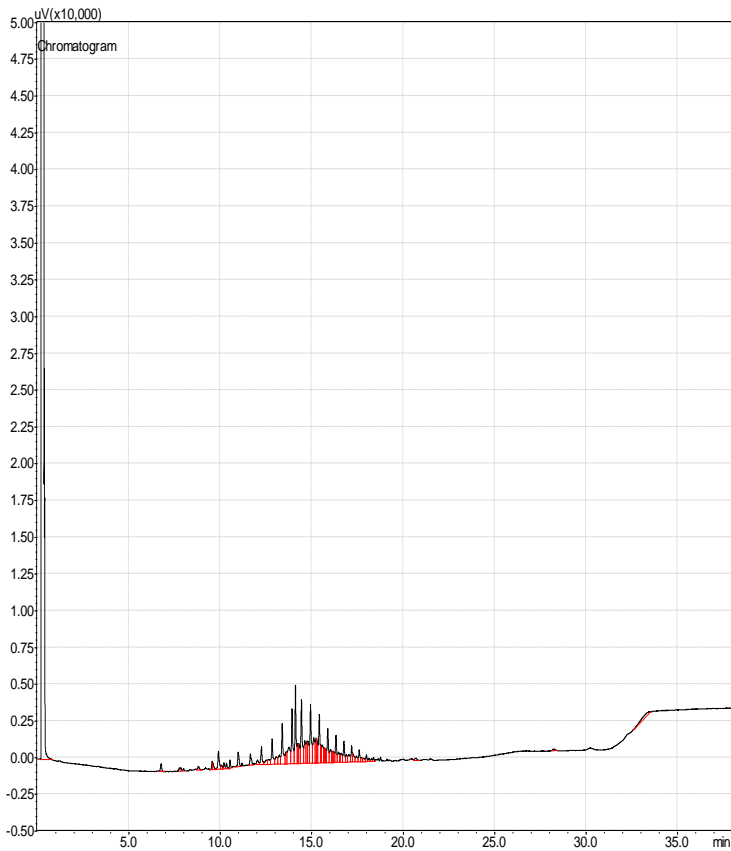
a. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
21.7441	29.95	2.7015	7.7929

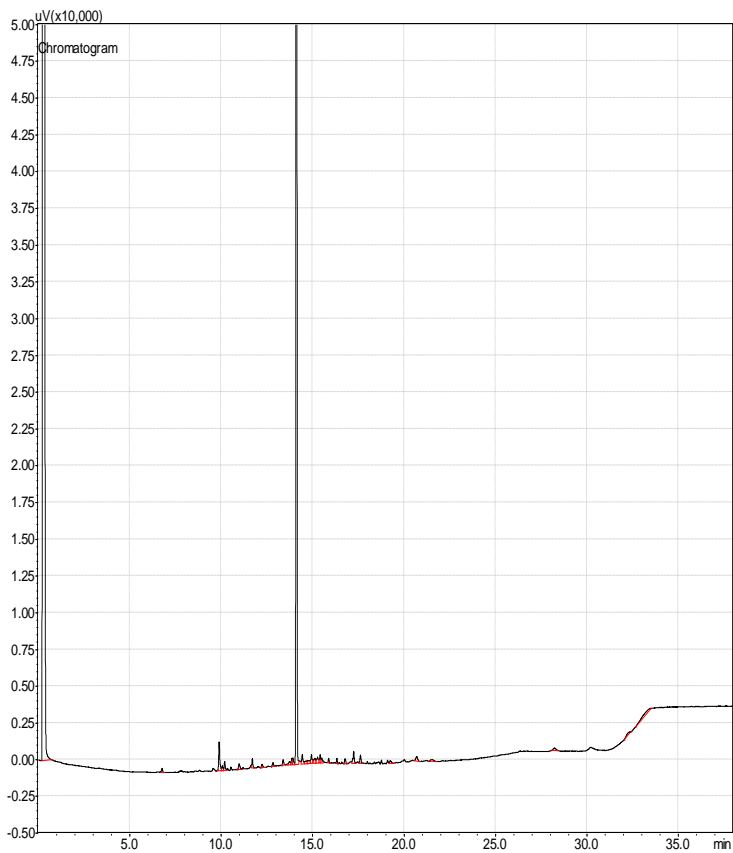


- b. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



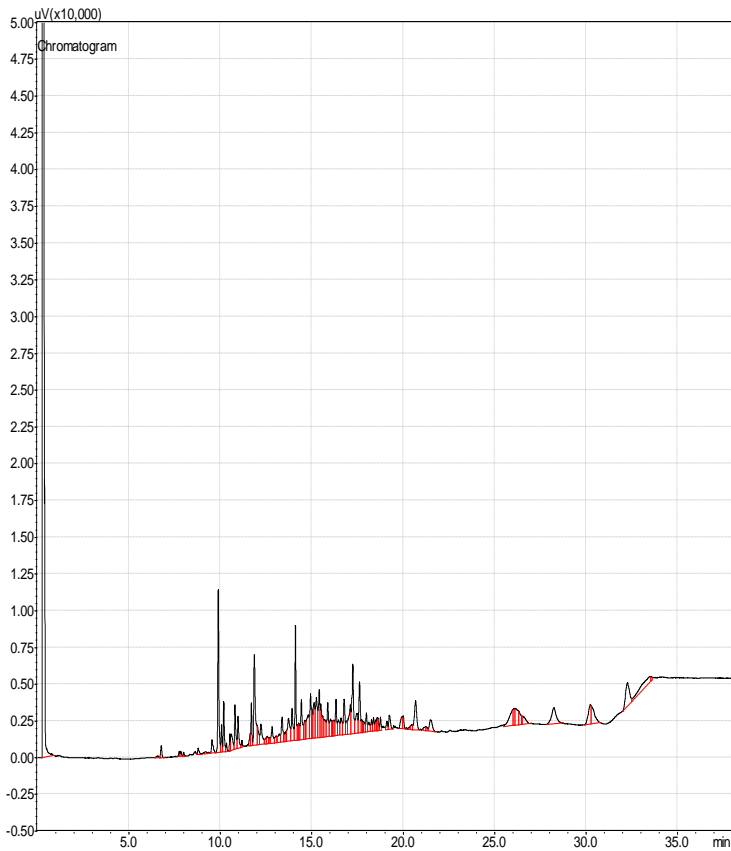
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
29.4928	35.3353	0.3327	1.8609

c. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



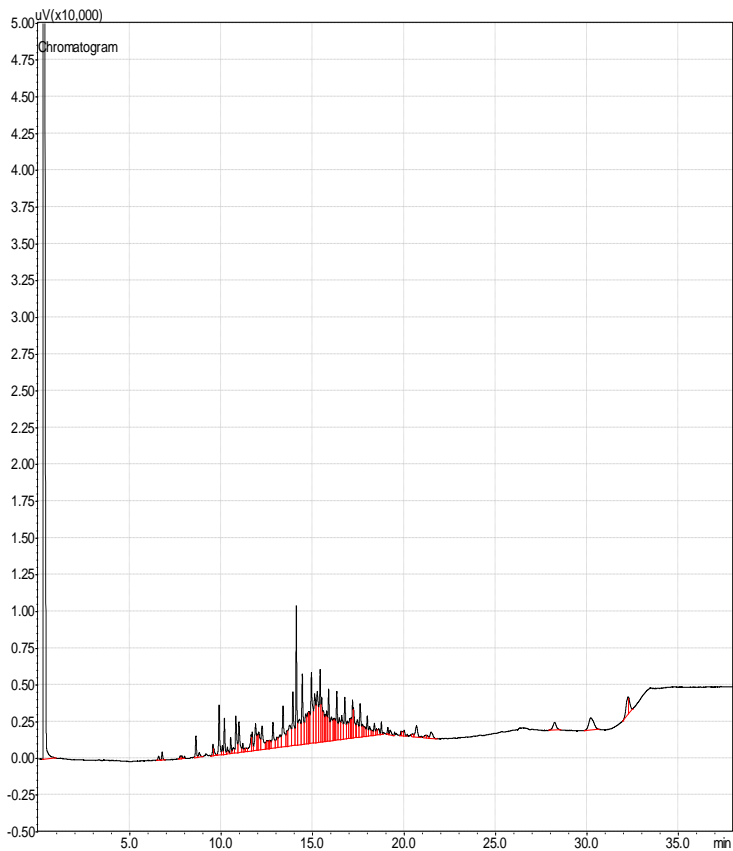
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
90.7737	2.3515	0.6031	1.4848

- d. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



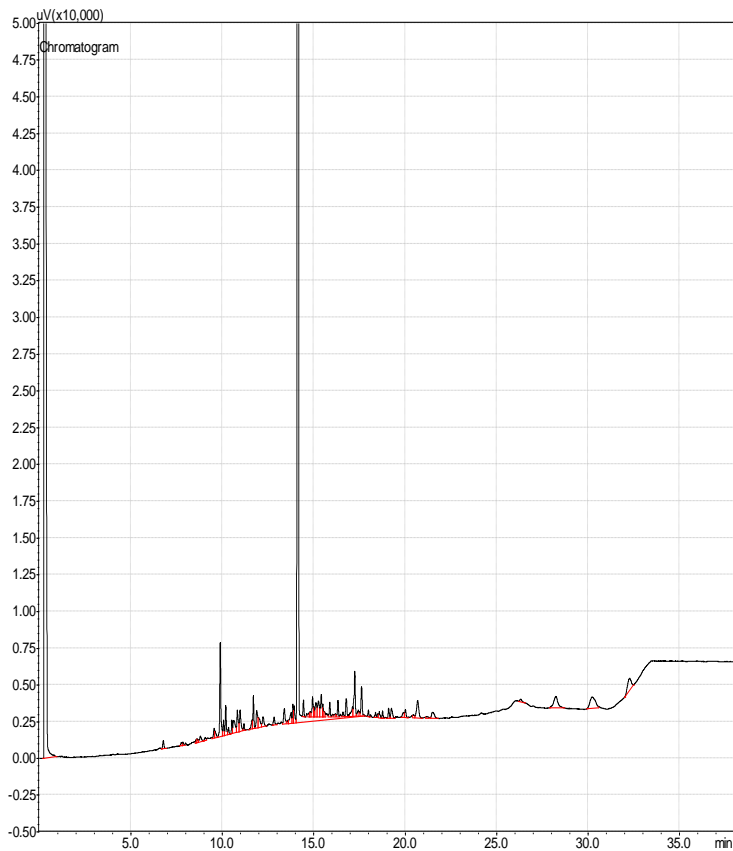
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
18.8753	17.326	5.2156	20.3258

- e. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



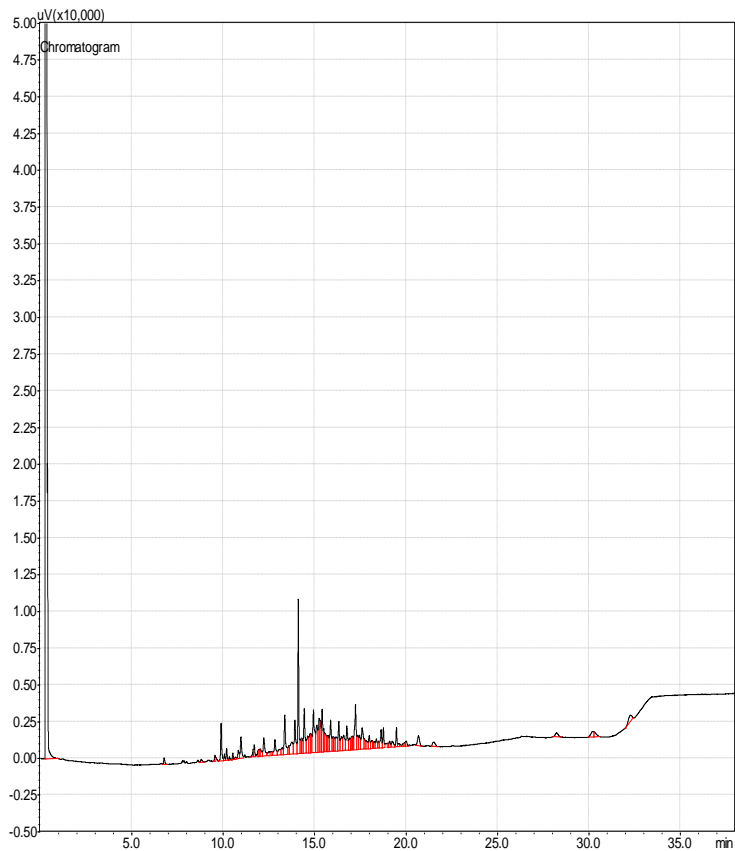
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
27.0688	28.5433	2.1734	5.1788

- f. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



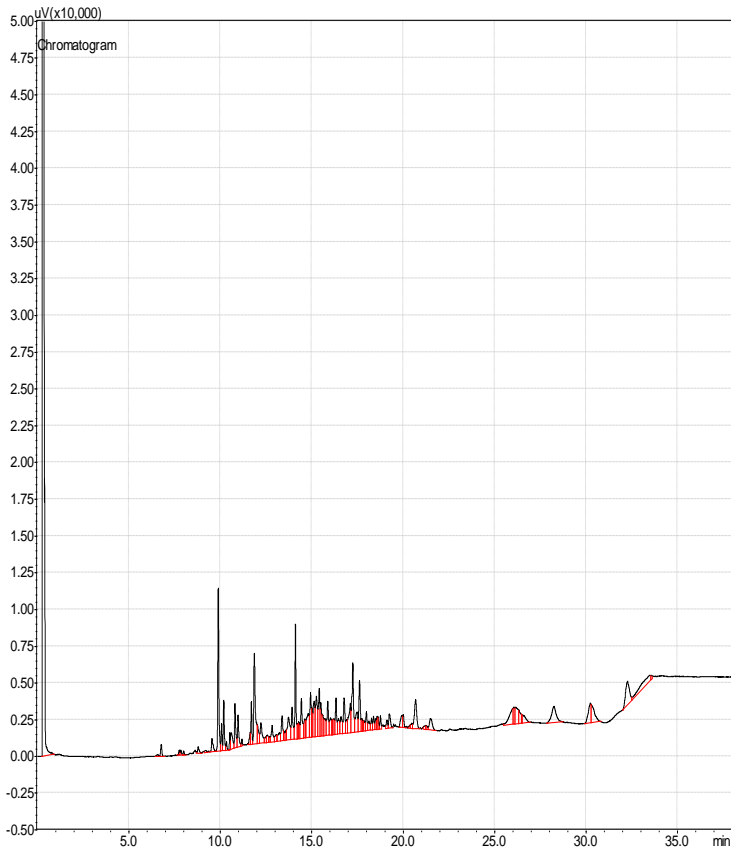
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
88.0338	2.0201	0.9464	2.0359

- g. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
25.596	26.6365	2.1114	3.216

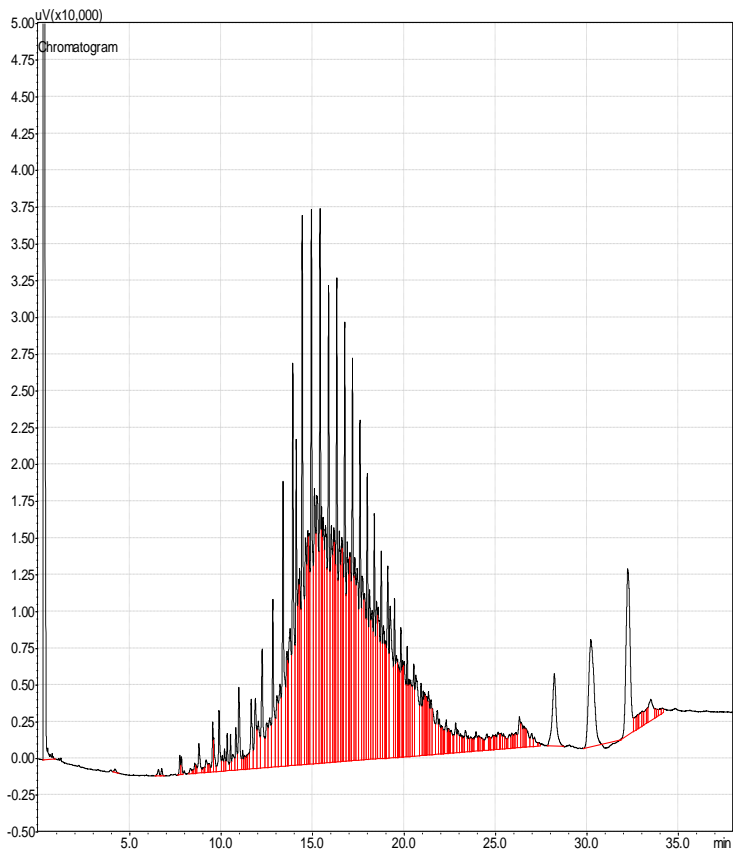
- h. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
21.1869	14.4376	4.2757	17.1144

- STAGE 2

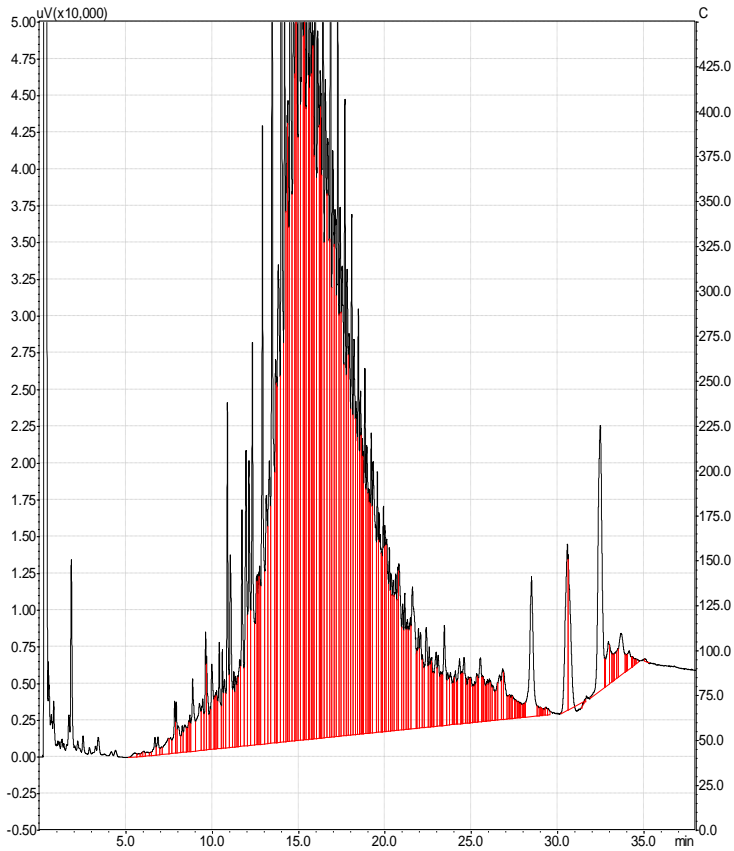
- a. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
15.2347	20.9549	6.9758	7.7044

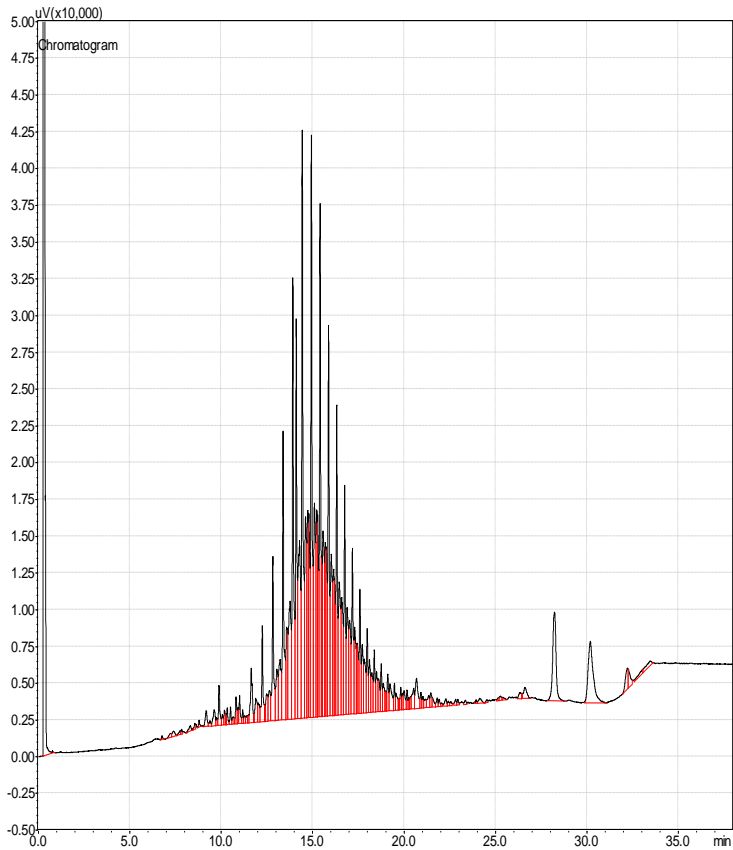


- b. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



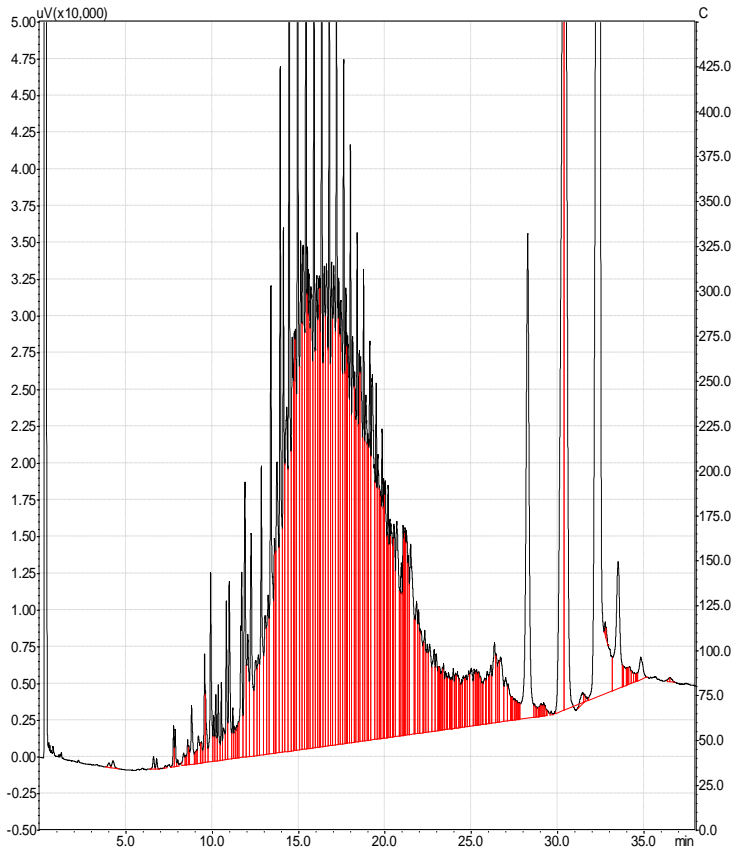
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
17.651	25.6628	5.1838	5.5859

c. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



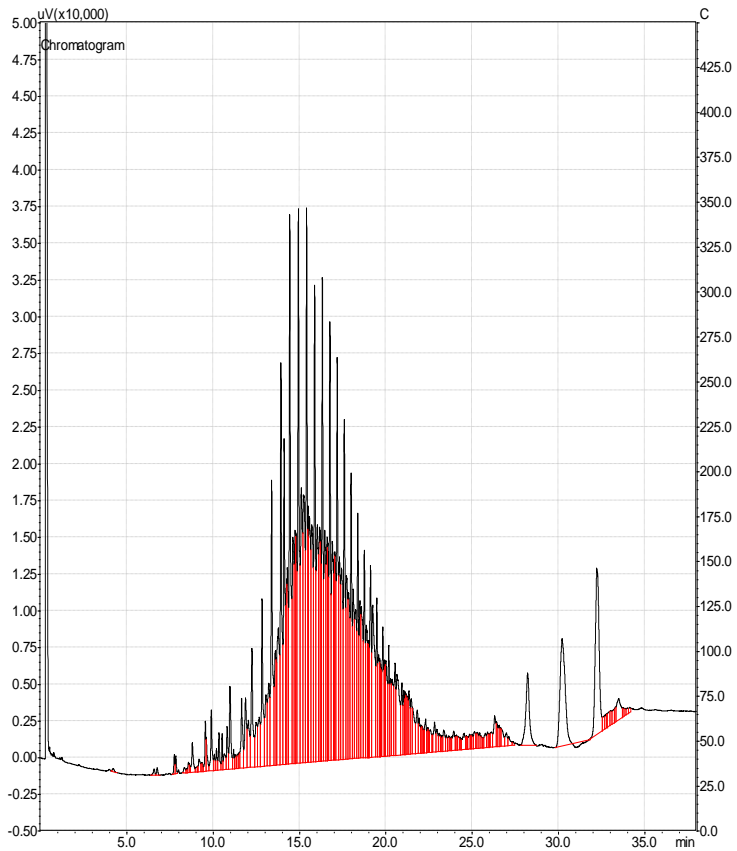
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
29.1443	33.2348	2.5457	5.6403

- d. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



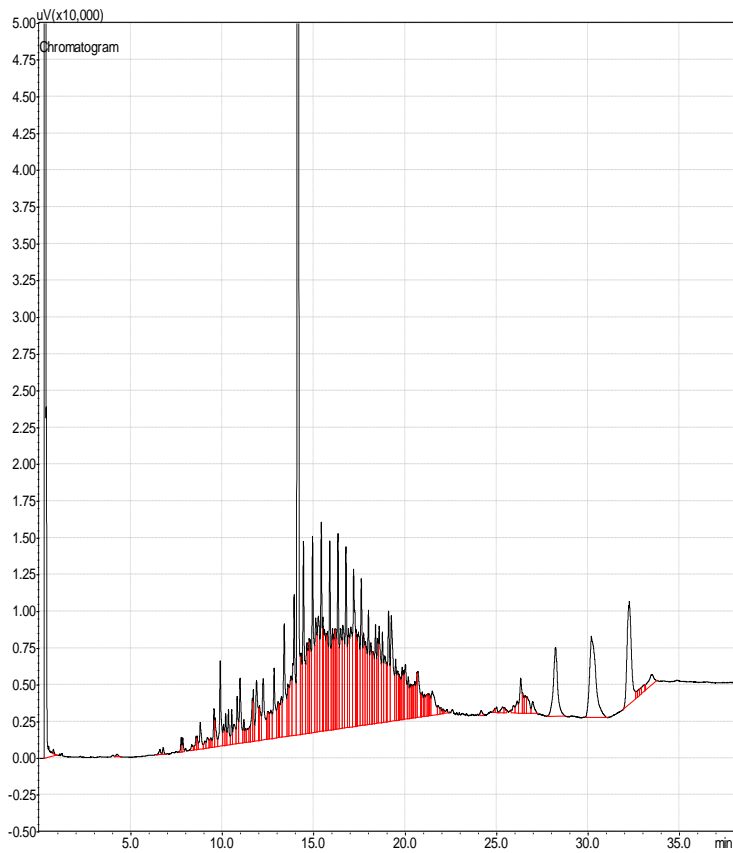
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
9.8972	15.5775	7.6545	38.0291

- e. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



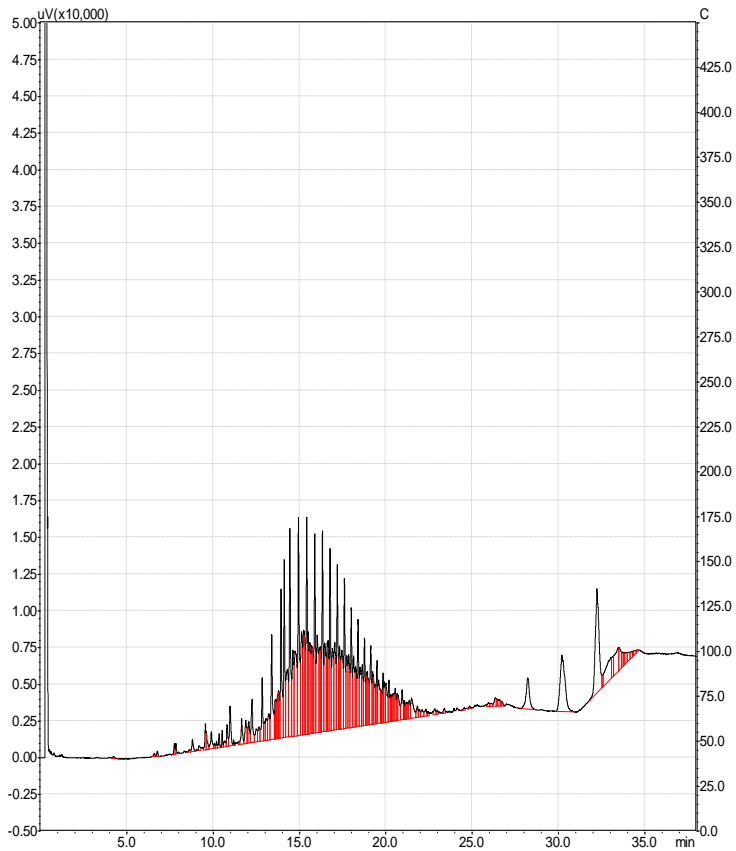
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
13.4471	20.9549	6.9758	7.7044

- f. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



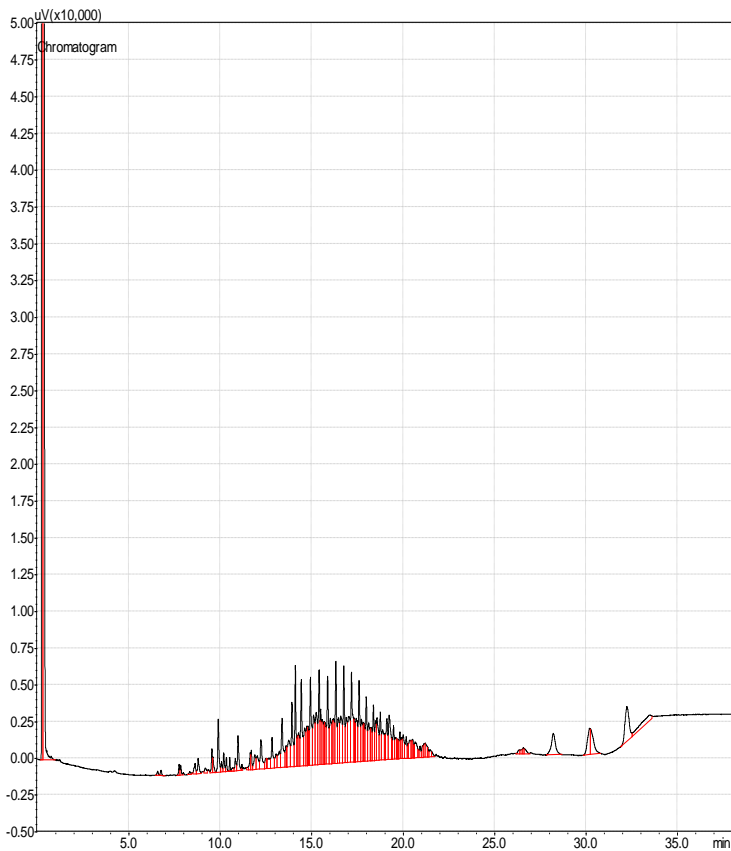
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
51.1559	10.378	3.5726	6.9348

- g. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



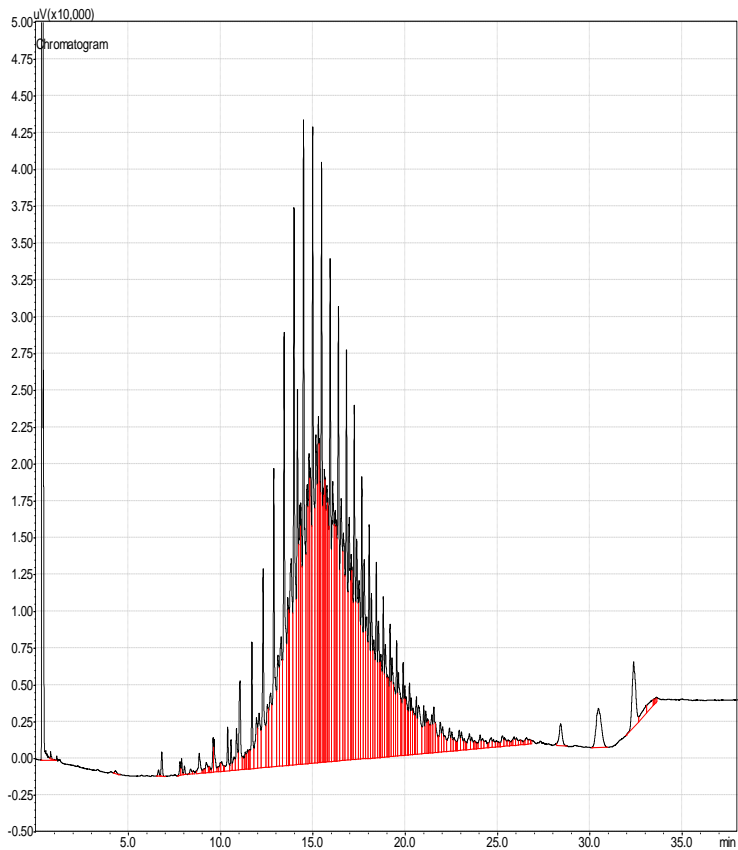
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
13.7324	20.8899	5.8746	12.5858

- h. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
15.1818	18.4121	5.9657	8.7527

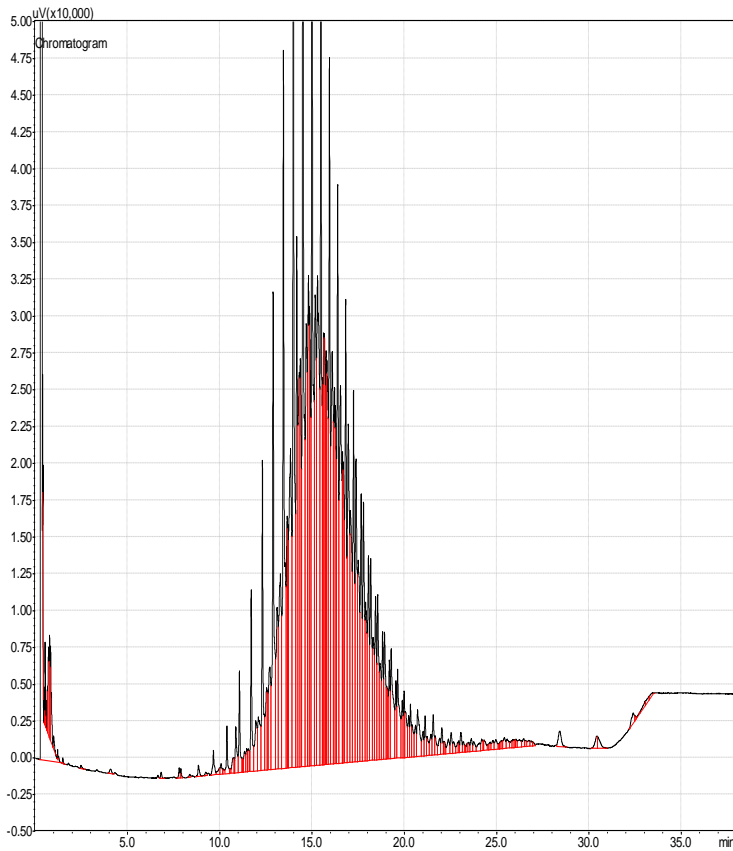
3. Dengan Pelarut *n*-hexane dan tanpa penambahan CO<sub>2</sub> murni  
a. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
19.9558	26.8514	4.3163	2.5193

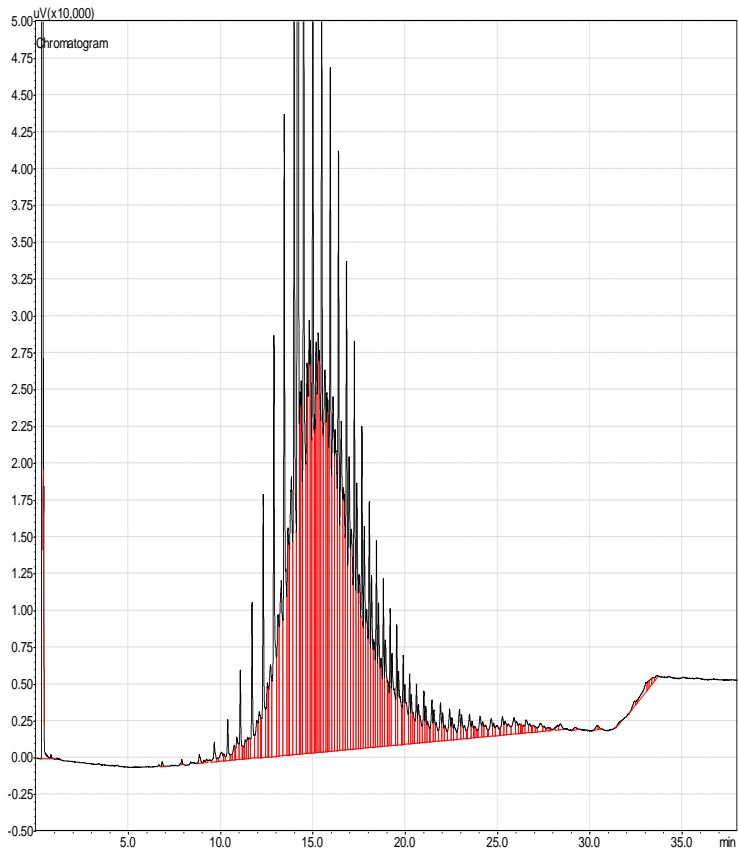


- b. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



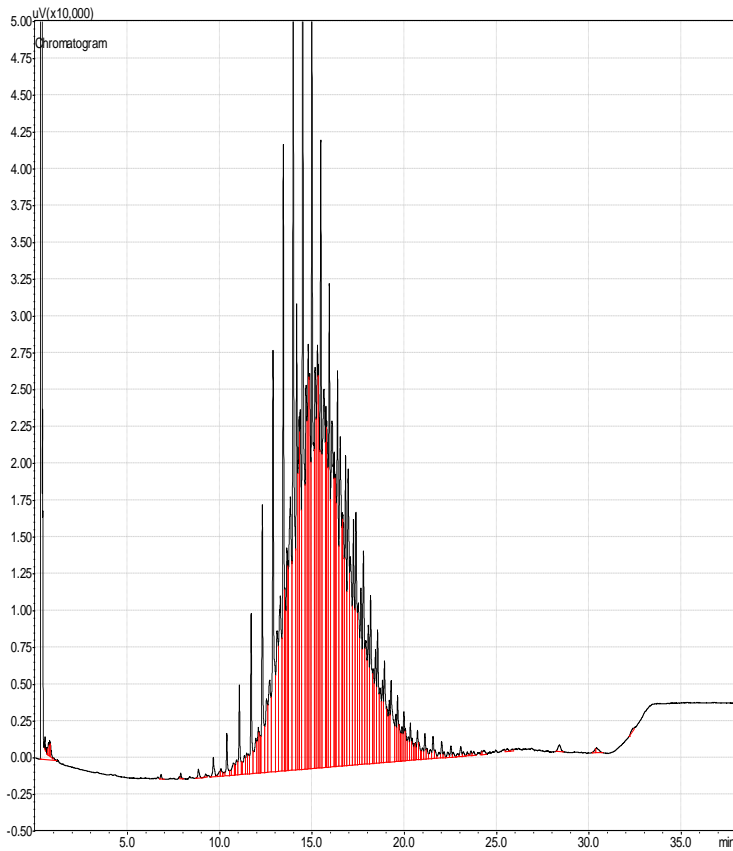
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
22.4613	37.6688	2.2811	0.8155

c. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



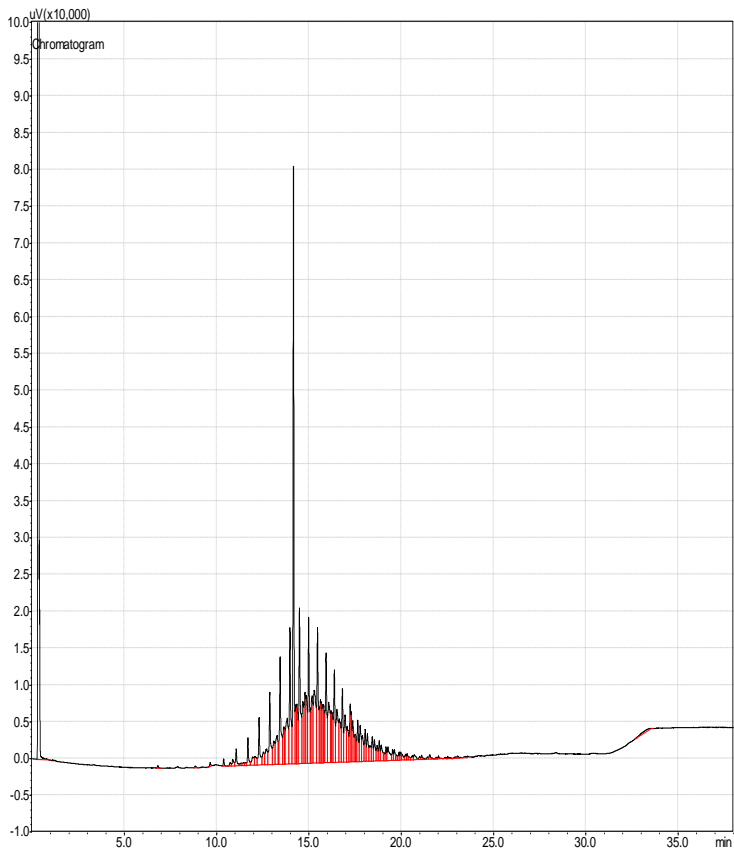
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
32.268	27.7981	2.218	1.0345

- d. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 7 hari



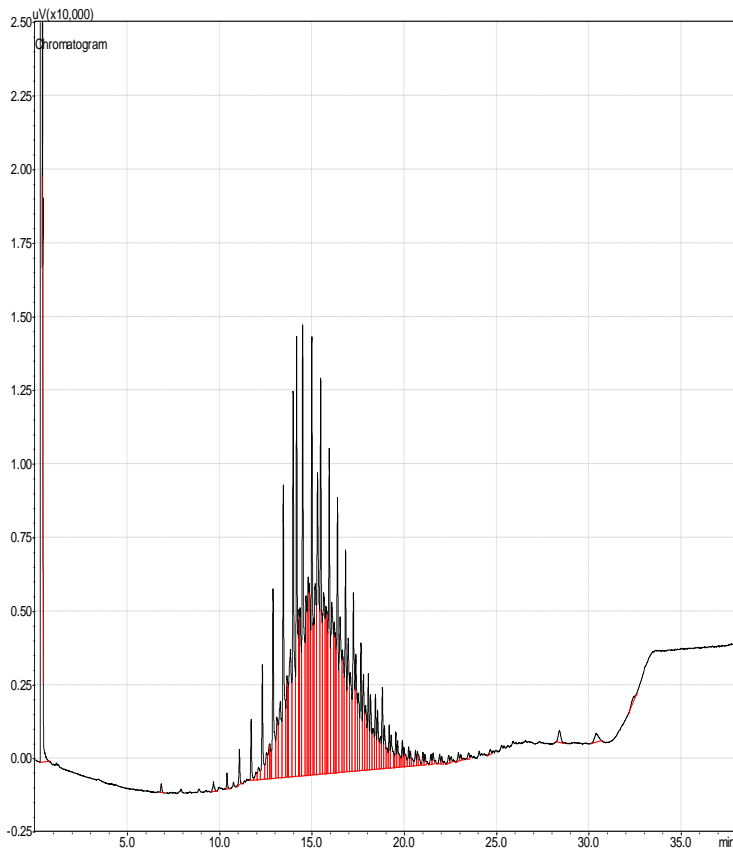
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
24.4404	34.4395	1.8206	0.1709

- e. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



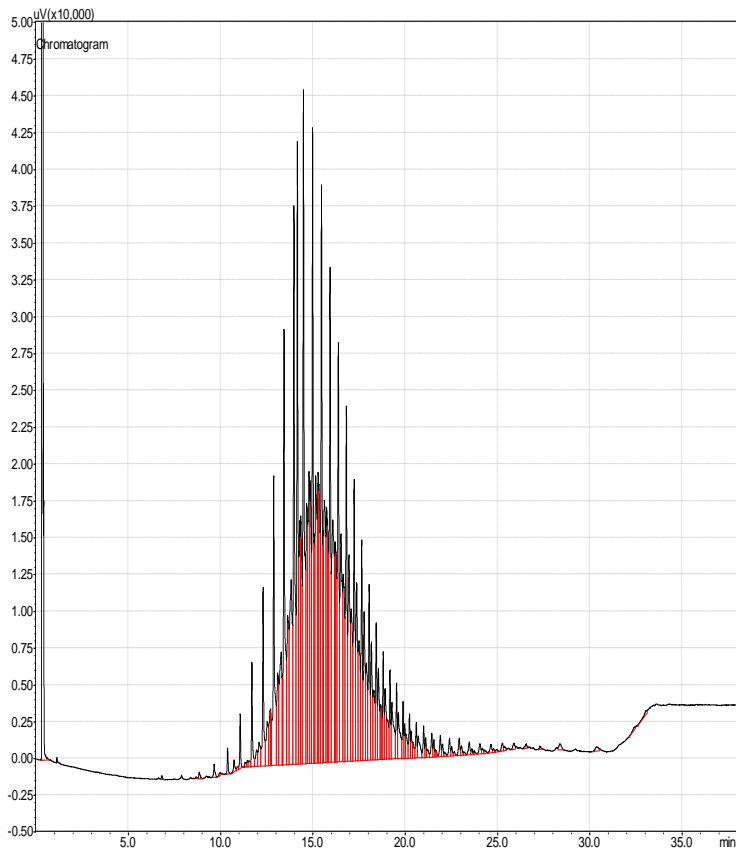
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
32.8486	28.4128	1.6363	0.3958

- f. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* alami dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



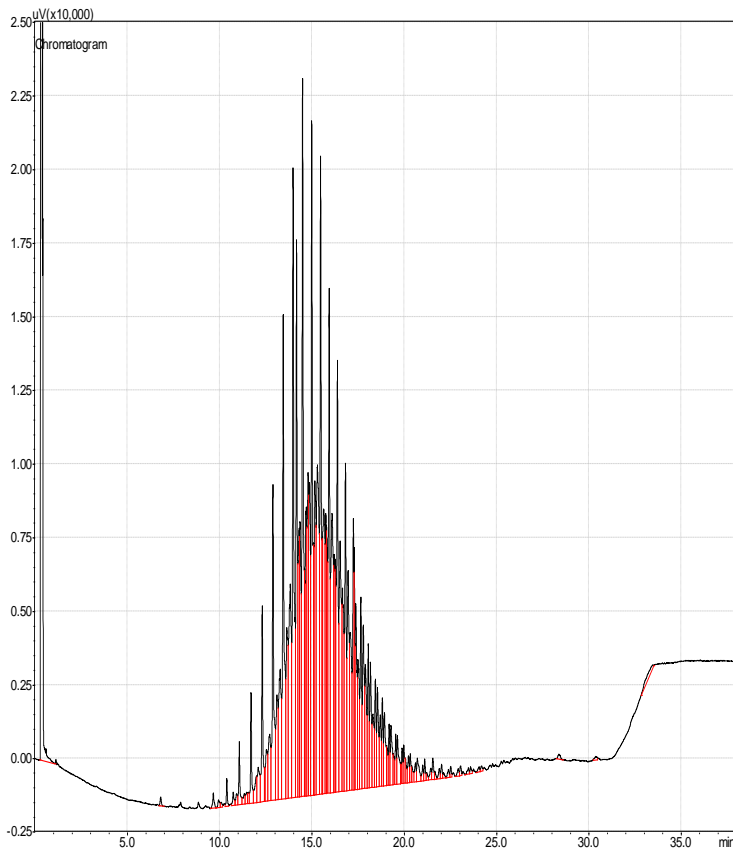
Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
22.915	34.1786	1.523	0.6159

- g. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan normal nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
22.2515	31.771	2.0862	0.3132

- h. Variabel mikroalga *Botryococcus braunii* mutasi dengan rendah nitrogen pada nutrient pada waktu inkubasi 20 hari



Kandungan (%)			
FFA	MAG	DAG	TAG
22.2515	33.3606	2.0862	0.3684

## RIWAYAT HIDUP



### PENULIS I

**Nadhif Achmad Faiz**, anak pertama dari tiga bersaudara lahir di Jakarta, pada tanggal 14 Mei 1996.

Penulis telah menempuh pendidikan di TK Daarut Tauhid Bandung (2000-2002), SDIT Ar-Ridho Pondok Kelapa Jakarta (2002-2008), SMP Negeri 109 Jakarta (2008-2011), SMA Negeri 81 Jakarta (2011-2014), dan S1 Teknik Kimia FTI – ITS (2014-2018). Penulis mengerjakan tugas akhir di Laboratorium Teknologi Biokimia. Selama menjadi mahasiswa di Teknik Kimia FTI-ITS penulis aktif di Himpunan Mahasiswa Teknik Kimia (HIMATEKK-ITS) sebagai *Staff Event Management Division* (2015-2016) dan sebagai *Section Head Of Control* (2016-2017). Penulis juga pernah menjadi *Head Coordinator* dari *National Olympiad Of Chemical engineering* pada acara *Chemical Engineering Innovation Festival* (Chernival) pada tahun 2015-2016.

Penulis berharap dengan adanya skripsi ini dapat memberikan informasi, inspirasi serta ilmu pengetahuan bagi orang-orang yang sedang melakukan penelitian, terutama mahasiswa ITS. Apabila ingin berdiskusi atau berhubungan dengan penulis mengenai isi skripsi ini, dapat melalui email ke [nadhifahmad14@gmail.com](mailto:nadhifahmad14@gmail.com) atau via telepon di +6281219555531.





## **PENULIS II**

**Hana Nabila Salamah**, anak kedua dari tiga bersaudara lahir di Jakarta, pada tanggal 25 September 1997.

Penulis telah menempuh pendidikan di TK Labschool Jakarta (2001-2003), SDN IKIP Rawamangun Jakarta (2003-2008), SMP Negeri 255 Jakarta (2008-2011), SMA Negeri 81 Jakarta (2011-2014), dan S1 Teknik Kimia

FTI – ITS (2014-2018). Penulis mengerjakan tugas akhir di Laboratorium Teknologi Biokimia. Selama menjadi mahasiswa di Teknik Kimia FTI-ITS penulis pernah aktif di BEM ITS sebagai Staff Kesejahteraan Mahasiswa (2015-2016). Penulis juga pernah menjadi *Project Officer* dari *Social Action for Future Enlignment* pada acara *Chemical Engineering Innovation Festival* (Chernival) pada tahun 2016-2017. Selain itu, penulis juga pernah menjadi Asisten Laboratorium Mikrobiologi.

Penulis berharap dengan adanya skripsi ini dapat memberikan informasi, inspirasi serta ilmu pengetahuan bagi orang-orang yang sedang melakukan penelitian, terutama mahasiswa ITS. Apabila ingin berdiskusi atau berhubungan dengan penulis mengenai isi skripsi ini, dapat melalui email ke [hana.nabila@gmail.com](mailto:hana.nabila@gmail.com) atau via HP/WA 085716649905.